FACULTE DE MEDECINE DE DIJON

Année 1979 - N° 46

LES COLORANTS DANS LES MEDICAMENTS

- ESSAI DE SYNTHESE -

T H E S E

présentée

à la Faculté de Médecine de DIJON

et soutenue publiquement le 22 mai 1979

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Jacques ROD

né le 8 novembre 1951

à ST-JULIEN-EN-GENEVOIS (Haute-Savoie)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546814_0036

FACULTE DE MEDECINE DE DIJON

Année 1979 - N*

LES COLORANTS DANS LES MEDICAMENTS

- ESSAI DE SYNTHESE -

T H E S E

présentée

à la Faculté de Médecine de DIJON

et soutenue publiquement le 22 mai 1979

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Jacques ROD

né le 8 novembre 1951

à ST-JULIEN-EN-GENEVOIS (Haute-Savoie)

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

PERSONNEL DE LA FACULTE

M.J.B. BOUHEY : Doyen
M. A. MARIN : Assesseur
M. R. PUTELAT: Assesseur
M.J.P. DIDIER : Assesseur
M. J. GUERRIN: Assesseur

M. J. GUYOT : Professeur Honoraire
M. F. BARON : Professeur Honoraire
Mlle G.PALLOT : Professeur Honoraire

PROFESSEURS TITULAIRES

Anatomie et organogênèse : P. BARRY
Anatomie pathologique : R. MICHIELS
Biochimie : P. PADIEU
Biophysique : P. GAILLIARD
Carcinologie : F. CABANNE, Doyen Honoraire
Clinique Chirurgicale : H. VIARD
Clinique Médicale : P. CORTET
Clinique gynécologique et obstétricale : J. JAHIER
Clinique Médicale infantile : M. ALISON
Clinique neuropsychiatrique : J. BALLIVET
Hépato-Gastro-entérologie : Cl.KLEPPING
Histologie : G. RUCART
Maladies infectieuses : F. DESTAING
Médecine Légale et toxicologie : A. MARIN
Pathologie Chirurgicale : C. FERRY
Pathologie médicale : R. PUTELAT
Physiologie : J. KLEPPING
Sémiologie médicale : J.B. BOUHEY

PROFESSEURS SANS CHAIRES

Biochimie : J. DEDREUX
Carcinologie : J. GUERRIN
Chirurgie Générale : P. AUPECLE
Hématologie et Maladies du sang : A. DUZER
Histologie : P. ZAHND
Médecine expérimentale Immunologie : F. MARTIN
Médecine préventive et Santé Publique, Hygiène : M. CARON
Physiologie : J.P. DIDIER
Radiologie (diagnostic) : J.P. MABILLE

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Anatomie et Organogénèse : J.M. AUTISSIER

Anesthésiologie : B. CAILLARD
M. WILKENING

Bactériologie, virologie : A. KAZMIERCZAK

Biochimie Médicale : G. MACK

Chirurgie générale : S. BRIET
G. PIGANIOL

Chirurgie thoracique et cardio-Vasculaire : M. DAVID

Dermatologie : D. LAMBERT

Gynécologie et Obstétrique : J.P. FELDMAN

Hématologie et Maladies du Sang : J. BONHOMME

Mathématiques, statistiques informatique médicale : Mme L. DUSSERRE

Médecine interne : M. GAUDET
P. LOUIS

Nephrologie : G. RIFLE

Neurochirurgie : A. THIERRY

Neurologie : R. DUMAS

Orthopédie, Traumatologie, Chirurgie plastique et reconstructive : P. GRAMMONT

Parasitologie : P. CAMERLYNCK

Pédiatrie et Génétique Médicale : J.L. NIVELON

Pharmacologie : A. ESCOUSSE

Pneumologie, Phtisiologie : L. JEANNIN

Psychiatrie : P. TRAPET

Radiologie (diagnostic) : M. WEILLER
D. BINNERT

Radiologie (Thérapie) : J.C. HORIOT

Rhumatologie : J. STRAUSS

AGREGES LIBRES

Dermatologie, Vénéréologie : J.L. CHAPUIS

Ophtalmologie : P.G. MOREAU

La Faculté de Médecine de Dijon déclare que les opinions émises dans les thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

J U R Y DE LA T H E S E

Président : Monsieur le Professeur M. CARON

Membres : Monsieur le Professeur P. PADIEU

Monsieur le Professeur A. MARIN

Monsieur le Professeur A. ESCOUSSE

A NOTRE PRESIDENT DE THESE :

Monsieur le Professeur M. C A R O N

qui nous faites l'honneur d'accepter la présidence de notre jury.

Nous avons été touché par la chaleur et la bienveillance de votre accueil.

L'étendue de vos connaissances et de vos intérêts ainsi que l'enthousiasme qui les anime sont pour nous un exemple précieux.

Nous vous adressons, à travers ce travail, l'expression de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur P. PADIEU

Nous avons trouvé en vous l'image attachante du chercheur. Votre gentillesse nous a apporté l'enthousiasme indispensable à l'étude.

Nous vous sommes très reconnaissant d'avoir accepté de juger ce travail.

Qu'il en soit le témoignage.

A Monsieur le Professeur A. MARIN

Nous avons eu le plaisir de recevoir votre enseignement lors d'un de nos stages hospitaliers. Votre humour et vos précieux conseils nous aident quotidiennement.

Veuillez trouver ici l'expression de notre sincère gratitude.

A Monsieur le Professeur A. ESCOUSSE

Vous avez su nous faire profiter de vos connaissances à travers un enseignement riche et attrayant.

Vous avez aimablement accepté de juger notre travail.
Veuillez trouver ici le témoignage de notre respectueux attachement.

JE DEDIE CETTE THESE :

à mon père,

à ma mère.

A Joëlle,

A Mathilde.

à Roger,

à Bernard,

à mes grands-parents,

à ma famille,

à mes amis.

A nos Maitres de la Faculté de Médecine et des Hopitaux de DIJON.

A nos Maitres de stage interné.

A nos camarades de stage interné.

Au personnel des services hospitaliers avec qui nous avons travaillé.

Nos remerciements s'adressent à :

- *Monsieur le Docteur CHAPMAN*

  du service de la Nutrition de l'Organisation Mondiale de la Santé à Genève.

- *Monsieur le Professeur THEVENIN*

  de la Faculté de Pharmacie de Dijon

- *Monsieur le Professeur DUPUIS*

  de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Dijon.

- *Madame NGUYEN-LAISSARD*

  Pharmacienne de l'Hopital du Bocage.

Nous remercions Michèle Malfroy qui nous a aidé dans la réalisation technique de ce travail.

Nous remercions les laboratoires qui ont aimablement répondu à nos questions.

P L A N

1ère PARTIE : SITUATION DU SUJET

Introduction..... 1

Généralités..... 2

Historique et aspects réglementaires actuels de l'emploi des colorants pharmaceutiques..... 5

2e PARTIE : ETUDE DES COLORANTS

T O X I C O L O G I E

I - Normes de pureté et d'identité..... 13

II - Etude de toxicité aiguë..... 14

III - Etude de toxicité à court terme..... 15

IV - Etude de toxicité à long terme..... 16

V - Etude biochimique..... 17

VI - Etudes de reproduction, embryotoxicité et pouvoir tératogène..... 17

VII - Carcinogénèse, pouvoir mutagène

A) Carcinogénèse..... 18

B) Pouvoir mutagène..... 20

VIII - Etude du pouvoir sensibilisant..... 20

A) Mécanisme des réactions allergiques ou pseudo-allergiques..... 22

B) Moyens d'étude du pouvoir sensibilisant..... 23

C) Les colorants sensibilisants et les réactions.... 25

IX - Conclusion..... 29

E T U D E A N A L Y T I Q U E DES C O L O R A N T S

Les colorants azoïques

Historique..... 31

Structure..... 31

Métabolisme..... 33

Toxicologie..... 35

1°) Sensibilisation - Allergie..... 35

2°) Etude du pouvoir carcinogène..... 38

3°) Autres effets toxiques..... 39

Conclusion..... 40

Préambule à l'étude des monographies..... 41

Jaune 2 G..... 42
Tartrazine..... 43
Jaune Orangé S..... 46
Azorubine..... 49
Rouge Cochenille A 52
Rouge 2 G..... 54
Noir Brillant P N 58
Brun Chocolat H T 60
Brun F K..... 63

Les dérivés du Triphénylméthane

Généralités..... 69

Métabolisme..... 69

Toxicologie..... 70

1°) Sensibilisation..... 70

2°) Carcinogénèse..... 70

3°) Action sur la synthèse de l'A R N, actions enzymatiques..... 71

4°) Toxicité générale..... 72

Conclusion..... 72

Monographies

Bleu Patenté V 73
Bleu Brillant F C F 76

Colorants dérivés du Xanthène : Erythrosine J..... 80

Colorants quinophtaliques : Jaune de Quinoléine..... 85

Indigotine synthétique..... 88

⁂ LES COLORANTS VEGETAUX 91

Caroténoïdes..... 92

Carotène..... 92

Lycopène..... 97

Xantophylles et Canthaxanthine..... 98

Curcuma et Curcumine..... 101

Rocou et Bixine..... 102

Caramel..... 105

Chlorophylle..... 108

Charbon végétal officinal..... 112

⁂ LES COLORANTS MINERAUX..... 114

Carbonate de calcium..... 114

Oxydes de fer..... 115

Dioxyde de Titane..... 116

Pigments et laques insolubles..... 119

D I S T R I B U T I O N DES C O L O R A N T S DANS LES M E D I C A M E N T S..... 120

Q U E S T I O N N A I R E A D R E S S E AUX L A B O R A T O I R E S..... 125

3e PARTIE : DISCUSSION

INTERETS DE LA COLORATION DES MEDICAMENTS..... 130

Intérêt psychologique..... 130

La sécurité..... 132

INCONVENIENTS DE LA COLORATION DES MEDICAMENTS..... 135

La sécurité..... 135

Le pouvoir sensibilisant..... 137

Critique des études toxicologiques..... 138

EVOLUTION DE LA LEGISLATION..... 142

PERSPECTIVES D'AVENIR : alternatives à l'usage des colorants pharmaceutiques..... 145

C O N C L U S I O N..... 150

Bibliographie..... 151

1ère PARTIE : SITUATION DU SUJET

I N T R O D U C T I O N

La couleur, d'un point de vue très général, semble être étroitement liée à la matière vivante et, dans le cas de certains pigments (chlorophylle, hémoglobine...) tient une place fondamentale dans le phénomène de la vie.

Cette importance de la couleur a été pressentie par l'homme qui l'a fait participer depuis les temps reculés à ses activités artisanales et artistiques.

Message ou signal, elle nous renseigne sur notre environnement et ce rôle d'information tient une place considérable dans nos sociétés.

Ce n'est qu'assez récemment que ce rôle a été intégré à nos coutumes alimentaires et, plus récemment encore, que le public, profondément concerné par cette fonction primaire, s'est inquiété du développement des colorants alimentaires.

Nous avons donc pensé qu'il serait intéressant, alors que les remous passionnés de la campagne récente contre les colorants alimentaires se calment, de tenter de faire une mise au point de la situation actuelle des colorants à usage pharmaceutique.

G E N E R A L I T E S

Si les colorants naturels (indigo, cochenille, safran,...), additifs les plus anciens, sont connus et utilisés depuis des siècles, les colorants de synthèse, eux, ont vu le jour il y a un peu plus de cent ans, grâce au développement de la chimie organique. Depuis, leur emploi n'a cessé de croître dans tous les domaines (textile, alimentation, imprimerie, pharmacie, etc.) où ils ont avantageusement remplacé les colorants naturels.

En effet, leur prix de revient faible (50 à 100 fois moins chers) allié à une coloration uniforme et résistante aussi bien au temps qu'aux facteurs physiques et chimiques les ont fait préférer aux substances naturelles. On estime à 150 tonnes environ l'emploi annuel des colorants alimentaires en France.

Dans le domaine pharmaceutique, leur usage n'est mentionné qu'à partir de 1949 (7è édition de la pharmacopée) et ce n'est que dans la 8e édition qu'une liste est établie.

Actuellement, la 9e édition de la pharmacopée [75] autorise les substances colorantes suivantes :

Colorants minéraux :

- carbonate de calcium (blanc) ; E 170
- oxyde de fer (rouge, brun) ;E 172
- oxyde de titane (blanc). E 171

Colorants végétaux :

- canthaxanthine (jaune) ; E 161
- carotènes x (jaune) ; E 160
- curcuma (jaune) ; E 100
- lycopène (jaune) ; E 160
- rocou (jaune) ; E 160
- xanthophylles (jaune) ; E 161
- caramels (brun) ; E 150
- indigotine (bleu) ;E 132
- chlorophylle (vert) ; E 141
- chlorophyllines (vert) ; E 141
- charbon végétal (noir).E 153

Colorants synthétiques :

Mono-azoïques

- azorubine (rouge) ; E 122
- coccine (rouge) ; E 124
- rouge 2 G ; pas de code
- jaune orangé S (orange) ; E 110
- Tartrazine (jaune) ; E 102
- Jaune 2 G. pas de code.

Bis-azoïques

- noir brillant B N ; E 151
- brun chocolat H T ; pas de code
- brun F K. pas de code

Indigoïde

- indigotine (bleu). E 132

Dérivés du triphényl méthane

- bleu patenté V ; E 131.
- bleu brillant FCF.pas de code

Dérivé de la quinoléine :

- Jaune de quinoléine. E 104

Dérivé du xanthène iodé

- erythrosine (rouge). E 127

Soit :

9 colorants jaunes ;
4 " rouges ;
1 " orange ;
3 " bleus ;
4 " bruns ;
2 " verts ;
2 " noirs ;
2 " blancs.

La pharmacopée nous précise, en outre, les catégories de médicaments pouvant être colorés : ce sont essentiellement les comprimés, dragées et assimilés. Il n'est pas mentionné d'usage de colorant dans le cas des suppositoires, poudres, sirops, granulés, pommades, collyres, ni des médicaments injectables.

Nous verrons dans la 2e partie la distribution des colorants dans les divers médicaments.

HISTORIQUE

ET ASPECTS REGLEMENTAIRES ACTUELS

DE L'EMPLOI DES COLORANTS PHARMACEUTIQUES

I)

Nous commencerons par souligner le statut aussi équivoque qu'ignoré, des colorants à usage pharmaceutique. En effet, leur place a été jusqu'ici souvent mal définie par rapport aux colorants alimentaires, et ce n'est qu'assez récemment que les diverses pharmacopées ont fait mention de leur usage dans les médicaments, en se référant soit à des listes propres, soit aux listes positives des colorants alimentaires, soit même, sans les préciser.

En France, ce n'est qu'à partir de 1949 que le Codex (7e édition) note que *"les comprimés peuvent être diversement colorés à l'aide de substances colorantes autorisées"*, sans autre précision.

La pharmacopée Suisse de 1934 (Ve édition) n'en mentionne pas l'usage et ce n'est qu' en 1971 (VIe édition) qu'une liste de 44 colorants

est établie (parmi ceux-ci, 15 peuvent être utilisés, en cas de nécessité, pour teinter les médicaments injectables et les collyres).

Aux Etats-Unis,après avoir autorisé dans la XIIIe édition de 1947, l'utilisation de "colorants inoffensifs", sans autre détail, la pharmacopée précise dans son édition de 1970 que les colorants à usage pharmaceutique doivent être admis par la Food and Drug Administration (F D A) (les collyres et médicaments injectables ne doivent pas être colorés).

En Egypte,"l'usage de substances colorantes inoffensives est autorisé" dans la pharmacopée de 1953 sans autre précision, et la XIXe édition de la pharmacopée japonaise (1976) autorise l'usage des colorants inoffensifs dans les dragées et les comprimés.

Actuellement, et pour très peu de temps, en tant que membre de la Communauté Economique Européenne (CEE) la France possède d'une part, la liste positive commune de colorants à usage alimentaire et, d'autre part, une liste différente de colorants à usage pharmaceutique.

Ce bref tour d'horizon suffit à montrer la confusion régnant encore dans ce domaine et, bien que les différentes nations se soient employées à préciser les colorants autorisés, le désordre règne encore sur 2 points :

- le premier concerne les listes positives qui sont identiques (USA) ou différentes (Suisse, France...) pour les aliments et les médicaments. Une importante évolution sur ce point

prévue en 1979 sera examinée dans la 3e partie.

- le second concerne les disparités entre les listes de colorants pharmaceutiques elles-mêmes.

Colorants de synthèse autorisés comme additifs dans les préparations pharmaceutiques

Situation en 1976 [10]

Dénominations	N° C. E. E.	Color Index 1971	Espagne	France	Gde-Bretagne	Italie	R. F. A.	Suisse	U. S. A.
Tartrazine	E 102	19 140	+	+	+	+	+	+	+
* Chrysoïne S	E 103	14 270		+		+	+	+	
Jaune de Quinoléine	E 104	47 005	+	+		+	+	+	
* Jaune solide	E 105	13 015	+	+		+	+	+	
Jaune Orangé S	E 110	15 985	+	+	+	+	+	+	+
* Orangé GGN	E 111	15 980	+	+		+	+	+	
Azorubine	E 122	14 720	+	+	+	+	+	+	
* Amarante	E 123	16 185	+	+	+	+	+	+	+
Coccine nouvelle	E 124	16 255	+	+	+	+	+	+	
* Ecarlate acide	E 125	14 815	+	+		+	+	+	
* Ponceau 6 R	E 126	16 290	+	+		+	+		
Erythrosine	E 127	45 430	+	+	+	+	+	+	+
* Alizarine S		58 000	+	+					
* Bleau solanthrène RS	E 130	69 800	+	+		+	+	+	
Bleu patenté V	E 131	42 051		+		+	+	+	
Indigotine	E 132	73 015	+	+	+	+	+	+	+
Noir brillant BN	E 151	28 440		+	+	+	+	+	
* Noir 7984	E 152	27 755			+	+	+	+	

* colorants supprimés à partir du 1er octobre 1977

La compréhension de la situation actuelle de ces colorants et de son évolution probable passe par l'étude historique française et internationale des colorants alimentaires.

II)

La France est l'un des premiers pays au monde à avoir adopté le système dit des listes positives pour les colorants alimentaires.

Le texte fondamental est le décret du 15 avril 1912 pris en application de la loi du 1er août 1905, sur la répression des fraudes et la falsification des denrées alimentaires, et qui précise l'interdiction de vente de toute denrée alimentaire qui aurait été additionnée de substances chimiques ou de matières colorantes autres que celles dont l'emploi est déclaré licite par des arrêtés pris de concert par les Ministres de l'Intérieur, de l'Agriculture et du Commerce et de l'Industrie, sur avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France et de l'Académie de Médecine.

L'arrêté du 28 juin 1912 précise les exigences réglementaires, et le texte distingue colorants traditionnels et colorants "dérivés de la houille" (ces derniers sont au nombre de 22 : 3 roses, 8 rouges, 1 orange, 3 jaunes, 2 verts, 3 bleus, 2 violets).

Parmi les colorants traditionnels on trouve le caramel, la cochenille, l'orseille, le sulfate de cuivre, le bleu outremer, l'indigotine, l'alizarine synthétique et d'autres matières minérales (au nombre de 7).

Aucune substance toxique ne doit contaminer les colorants, mais les doses autorisées ne sont pas précisées.

Seules des modifications mineures apparaissent jusqu'en 1958 ou l'arrêté du 25 mars modifie les points suivants

- la liste des colorants utilisés est entièrement révisée et ne comporte que 11 colorants de synthèse (seuls, 4 sont repris de la liste précédente) 20 colorants d'origine végétale, 2 colorants d'origine animale et un nombre plus réduit de matières minérales.

- les modifications reflètent un souci de précision et les exigences de pureté se précisent : les colorants autorisés ne doivent contenir ni chromate, ni cadmium, ni mercure, ni selenium, ni uranium, ni hydrocarbures polycycliques ou amines aromatiques non sulfonés à l'exception de traces dont les taux sont déterminés par des méthodes officielles d'analyse.

- d'autre part, des limites sont fixées aux taux de plomb (20 mg/kg), d'arsenic (2 mg/kg) et d'éléments lourds autres que le plomb (30 mg/kg).

L'arrêté du 15 octobre 1964 modifié par les arrêtés des 31 mars 1967 et 13 février 1970 marque une troisième étape.

Ici apparaît la nécessité de transcrire dans la réglementation nationale des décisions prises au sein du Marché Commun, première réalisation pratique d'une réglementation internationale :

- la distinction entre colorants naturels et de synthèse est abandonnée au profit d'une classification en colorants de masse et de surface (29 substances), de surface seulement (6 substances minérales) et colorants à usage déterminé (2 substances).

- tous les colorants de synthèse sont conservés et 9 colorants d'origine naturelle sont abandonnés.

- les normes de pureté se précisent.

- le besoin d'information se concrétise par des règles d'étiquetage pour les colorants à usage alimentaire.

La 4e étape est marquée par le décret du 12 octobre 1972 et les arrêtés du 16 novembre 1973, qui imposent le signalement des additifs alimentaires employés dans les denrées alimentaires préemballées.

Enfin, l'arrêté du 24 août 1976, correspondant à l'entrée de 3 nouveaux états membres dans la C E E supprime, dès le 1er octobre 1977 les 9 colorants suivants :

- chrysoïne S (E 103) ;
- Jaune solide (E 105) ;
- Orange GGN (E 111) ;
- Orseille (E 121) ;
- Ecarlate GN (E 125) ;
- Rouge ponceau 6 R (E 126) ;
- bleu anthraquinonique (E 130) ;
- Noir 7 984 (E 151) ;
- terre d'ombre brûlée (E 181).

III)

Il faut bien réaliser que l'évolution des réglementations s'est faite plus ou moins simultanément dans les différentes nations et les initiatives internationales en ont souvent été la cause.

Dès le début du XXe siècle, la Société universelle de la Croix Blanche, considérant que la solution de ce problème ne pouvait être qu'internationale, énonça dans son congrès de 1908-1909 les principes qui constituent la base de nos législations actuelles (listes positives). Une vingtaine de colorants considérés comme inoffensifs furent alors énumérés.

La Commission Internationale des Industries agricoles créée en 1934, concernée par les problèmes agricoles et alimentaires, s'associera au mouvement.

Le Conseil de l'Europe, en 1948, apportera un nouvel élan en ce qui concerne :

- l'établissement de dossiers de renseignements ;
- la détermination des critères de pureté et la définition des méthodes d'analyse ;
- la recommandation d'une liste commune.

Le Comité mixte F. A. O./O. M. S.* d'Experts des additifs alimentaires, fondé en 1954 dans le cadre de l'Organisation des Nations Unies, fournit encore un important travail de collecte des données disponibles destiné à être répercuté auprès de chaque état sous forme de recommandations (DJA en particulier). (DJA = Dose journalière admissible).

Plus près de nous, la Communauté Economique Européenne est le premier organisme supra-national à être passé du stade théorique à l'application pratique en harmonisant, par la directive du 23 octobre 1962, les différentes législations en matière de colorants alimentaires. La suppression des 9 colorants cités plus haut aboutit à la liste positive actuellement en vigueur en

* Food and Agricultural Organisation / Organisation Mondiale de la Santé

France. Il est à noter qu'une clause de sauvegarde permet à un état membre d'interdire sur son territoire l'usage d'un ou plusieurs colorants admis au sein de la CEE. (Cas de l'Amarante en France).

En définitive, une dialectique s'est établie entre, d'une part les organismes sanitaires et législatifs nationaux et, d'autre part des organisations internationales. Celle -ci en s'appuyant sur l'évolution des données technologiques et scientifiques (nouveaux colorants, procédés d'évaluation toxicologiques améliorés) imposa des normes de sécurité de plus en plus sévères.

La deuxième partie de notre travail consistera à faire le point de la situation des colorants pharmaceutiques à la lumière des connaissances actuelles.

2e PARTIE : ETUDE DES COLORANTS

T O X I C O L O G I E

L'évolution de nos sociétés industrialisées, sécrétrices d'innombrables molécules de synthèse originales, exige une évolution proportionnelle de la toxicologie. Dans le domaine des colorants, les études doivent être d'autant plus rigoureuses qu'on accepte mal un effet toxique d'un produit non nécessaire, alors que la toxicité d'un antimitotique est universellement acceptée ; tout est - question de finalité. La toxicologie, en matière de colorant, tout en restant dans un cadre précis, devra faire preuve de possibilités d'adaptation au contexte et à l'évolution des techniques scientifiques. Un nouveau procédé pouvant abolir les idées précédemment admises.

I - LES NORMES D'IDENTITE ET DE PURETE DES COLORANTS

Il s'agit des caractéristiques chimiques et physiques (chromatographiques) permettant l'identification précise des colorants.

Elles sont fondamentales puisqu'elles définissent le sujet de toute notre étude. Le Comité mixte F. A. O./O. M. S. d'experts des additifs alimentaires [67] en a défini les principes d'établissement en 1965. L'intérêt en est multiple en particulier pour le toxicologue qui possède ainsi un sujet d'étude défini en regard des mélanges com-

plexes que représentent souvent les colorants (en particulier les colorants animaux et végétaux).

Elles permettent donc de distinguer et d'éliminer les effets toxiques des éventuels contaminants (matière première, solvant, produits provenant du matériel de fabrication, substances intermédiaires résiduelles, etc.) qui peuvent dépasser de beaucoup ce que les quantités présentes laissaient prévoir.

Leur intérêt est également important pour la protection du consommateur et la réglementation puisqu'elles permettent la vérification précise des colorants utilisés ainsi que leur degré de pureté adapté à l'usage prévu (en l'occurence la consommation humaine).

Un exemple montrant les difficultés rencontrées est celui du Brun F K qui se compose de 8 substances principales représentant 76,5 % du colorant et de 23,5 % de chlorure de sodium et de corps mal identifiés.

II - ETUDE DE TOXICITE AIGUE [69]

Il s'agit de l'étude de la toxicité de la substance d'épreuve administrée en une seule dose. Il est recommandé d'opérer sur 3 espèces animales, dont une n'appartenant pas à l'ordre des rongeurs. Les 2 sexes seront utilisés dans une des espèces au moins. La substance d'épreuve doit être administrée par voie orale et parentérale, et les animaux sont observés pendant 2 à 4 semaines suivant leur état. L'observation porte sur l'apparition, la nature et la durée des signes d'intoxication ainsi que sur la mortalité. Des animaux non traités servent de témoins.

Certains animaux décédés ainsi que des survivants doivent être autopsiés. L'examen microscopique des tissus sera fait si l'étude macroscopique en indique la nécessité.

Si la dose léthale est inférieure à 5 g/kg de poids corporel, il est nécessaire de déterminer la dose léthale 50 (DL 50, dose entraînant la mort de 50 % des sujets) chez une espèce. Il est intéressant de connaître la DL 50 des autres espèces afin de savoir si la différence de sensibilité entre les espèces est importante.

Enfin, cette étude devrait fournir des indications sur le mode d'action apparent du produit (action anticholinestérasique, hépatotoxique...) et permettre de tracer le plan d'études ultérieures.

III- ETUDE DE TOXICITE A COURT TERME [69]

Elle a pour objet d'examiner la nature biologique des effets toxiques et de déterminer l'action cumulative éventuelle, la variation de sensibilité selon les espèces, la nature des changements micro et macroscopiques, et la dose produisant ces effets.

Elle peut soit contribuer à éliminer un produit trop toxique, soit orienter les études complémentaires (toxicité à long terme, études spéciales...).

L'étude doit porter sur 2 espèces animales dont une de rongeurs les sujets étant en nombre suffisant pour l'exploitation statistique des résultats pendant une durée comprise entre 10 et

50 % de la durée de vie de l'animal.

L'éventail des doses devrait aller d'une dose sans effet à une dose nettement toxique si cela est possible, et un groupe ne recevant pas de produit doit servir de témoin.

Les observations doivent porter sur l'aspect général, le comportement, la croissance, la mortalité. Selon les cas, une étude de la quantité d'aliments ingérés, de la chimie du sang et des urines, et des explorations fonctionnelles de certains organes pourront être effectuées. L'étude des organes doit comprendre un examen macro et microscopique et la mesure des poids relatifs des organes dans les groupes témoins et les groupes d'épreuve. Enfin le métabolisme du produit (marquages radioactifs, excretion des métabolites...) pourra être étudié.

IV - ETUDE DE TOXICITE A LONG TERME

L'étude à long terme est, en général, la plus importante pour évaluer les doses journalières admissibles ou doses quotidiennes admissibles (DJA ou DQA).

Elle va rechercher les effets à long terme, en particulier le pouvoir carcinogène chez 2 espèces animales au moins. [69]

Une durée de 18 mois pour la souris et de 2 ans pour le rat ont été jugées suffisantes pour assurer une garantie minimale contre le risque de carcinogénèse (chez le chien, l'étude dure plus de 5 ans). Si l'extrapolation à l'homme semble hasardeuse, des études de plus

longue durée sur d'autres espèces peuvent être menées. Une étude détaillée quantitative et qualitative, de l'aspect général, du comportement, de la croissance, des effets biochimiques, de l'hématopoïèse, du métabolisme et de l'histopathologie doit être prévue et faire l'objet d'un rapport complet. La recherche de certains effets toxiques potentiels en particulier le pouvoir carcinogène, exige une observation prolongée et minutieuse des descendants (3 générations).

Les divers aspects de l'étude pourront être complétés ou orientés en fonction du contexte.

V - ETUDES BIOCHIMIQUES

Elles doivent être menées chez plusieurs espèces dont l'homme de préférence. Elles ont pour objet l'étude des mécanismes régissant le métabolisme des substances étudiées : mode, vitesse et degré d'absorption, quantités stockées dans les organes et les tissus, transformations métaboliques, mode et vitesse d'élimination. Les interactions avec d'autres substances absorbées simultanément, en particulier les médicaments et les autres additifs, doivent être prises en compte.

VI - ETUDES DE REPRODUCTION, D'EMBRYOTOXICITE ET DU POUVOIR TERATOGENE

Ces études pourront être intriquées avec les études à moyen et long terme. Toute modification concernant la procréation devra être étudiée de manière approfondie. Les études de reproduction doivent porter sur au moins 2 générations d'une espèce appropriée. Les renseignements porteront sur la fécondité, la gestation, l'état des nouveau-nés

la lactation, l'évolution de la mère et des descendants (recherche d'anomalie morphologique, viscérale ou squelettique entre autres).

Les études d'embryotoxicité et de pouvoir tératogène pourront être menées simultanément, ou, de préférence séparément. De nombreuses méthodes ont été proposées sans recueillir l'unanimité.

VII - CARCINOGENESE , POUVOIR MUTAGENE

A Carcinogénèse

Ce chapître de l'étude toxicologique est sans doute celui qui a la plus grande importance dans l'esprit de nos contemporains. L'exemple du Jaune de beurre, carcinogène confirmé, utilisé pendant des années dans l'alimentation est assez explicite.

Les colorants de synthèse nécessitent de soigneuses recherches d'un éventuel pouvoir carcinogène. N'oublions pas que les dérivés aromatiques, en particulier le N méthyl - 4 - amino - azobenzène, ont été parmi les premiers carcinogènes chimiques découverts.

Cependant l'origine naturelle d'un colorant n'implique en aucune manière son innocuité puisque aussi bien l'Aflatoxine B1 (extraite d'Aspergillus Flavus) que la Cycasine (extraite de la noix de Cycade) sont des substances aussi carcínogènes que naturelles.

Il est important de noter que dans les 3 cas cités, la substance n'est qu'un pré-carcinogène nécessitant une bio-transformation pour aboutir au "carcinogène ultime". Cette notion explique l'importance de la

connaissance des différents métabolites des colorants et la difficulté de transposer les résultats d'une espèce à une autre ne possédant pas le même équipement enzymatique. [5]

On a essayé de relier le pouvoir carcinogène à certaines caractéristiques biochimiques ou biophysiques parmi lesquelles nous citerons la liposolubilité (qui entraîne une rétention de la substance dans les tissus et favorise son absorption intestinale) et la possibilité d'établir des liaisons fortes de type "covalentes" entre le carcinone et les protéines des cellules cibles (pouvoir électrophile des carcinogènes ultimes). [28]

Ce dernier mécanisme pourrait aboutir à une perturbation de l'information contenue dans l'ADN des gènes (effet génétique) ou une modification de l'expression du genôme, en particulier au niveau membranaire, par modification de la structure de certaines protéines fonctionnelles ou de l'ARN [51] (effet épigénétique).

On a également proposé comme explication la stimulation par la substance incriminée, d'un virus oncogène latent. Au premier plan des moyens d'étude figurent les épreuves de toxicité à long terme, (prolongés sur 2 générations au moins, à la recherche de passage placentaire ou dans le lait, du carcinogène), la recherche chimique de molécules carcinogènes déjà connues, les études électrophorétiques des forces de liaisons inter-moléculaires [28]et les études *in vitro* sur des cultures de tissus sensibles telles les cellules embryonnaires de rat Fischer [77].

B) Etude du pouvoir mutagène

Les effets carcinogènes et mutagènes semblent avoir en commun une réaction aboutissant à une modification transmissible.

Ils sont très souvent liés (exception faite pour les analogues de base qui sont mutagènes mais non carcinogène).

Les études au long cours ainsi que celles de tératogénèse et de reproduction fournissent déjà quelques renseignements qui pourront être complétés par des études de l'action mutagène des substances sur des cultures de bactéries (Escherichia Coli, Salmonella Typhimurium) [91]

VIII- ETUDE DU POUVOIR SENSIBILISANT

Les réactions allergiques, plus précoces que les autres perturbations métaboliques où que les phénomènes de cancérisation, sont de précieux signes avant-coureurs des conflits biochimiques qui se déroulent entre l'homme et son biotope, et c'est pourquoi, pour le Professeur GERVAIS [4] *"le sujet allergique est un véritable "garde-fou" de la communauté. Ses ennuis de santé dépassent de loin l'individu Ils sont donc une véritable sonnette d'alarme, indiquant qu'une substance est potentiellement dangereuse".*

En fait, ces "garde-fous" sont relativement nombreux, puisqu'on considère actuellement que 10 % de la population mondiale souffre d'allergies majeures et 40 % d'allergies mineures. En France, 1,5 à 3 % de la population est asthmatique.

Dans le domaine des colorants, les évaluations de la fréquence des accidents de sensibilisation ont régulièrement augmenté ces dernières années (en vertu du fait qu'on ne trouve que ce que l'on cherche). Et c'est pourquoi, en opposition avec les affirmations de H. E AMOS et JJP. DRAKE [23] sur la faible incidence des réactions allergiques,nous relèverons quelques observations à ce sujet.

- Dès 1928, R. MAYER signale des phénomènes de sensibilisations croisées entre colorants azoïques et groupe de la paraphénylènediamine. [83]

- MICHAELSSON et JUHLIN [37] observent 27 réactions positives aux colorants azoïques chez 52 sujets urticariens et, en collaboration avec ZETTERSTRAM, ils rapportent 32 cas d'urticaires et d'asthme à la Tartrazine (les premières réactions observées à ce colorant datent seulement de 1959).

- SAMTER et BEERS [37] notent que 8 % de leurs patients allergiques à l'aspirine réagissent à la Tartrazine.

- Une étude de HOSEN sur la sensibilité de 500 sujets "tout-venant" à différents colorants autorisés, a montré que 15 % de ceux-ci étaient allergiques au moins à l'un des colorants.[37]

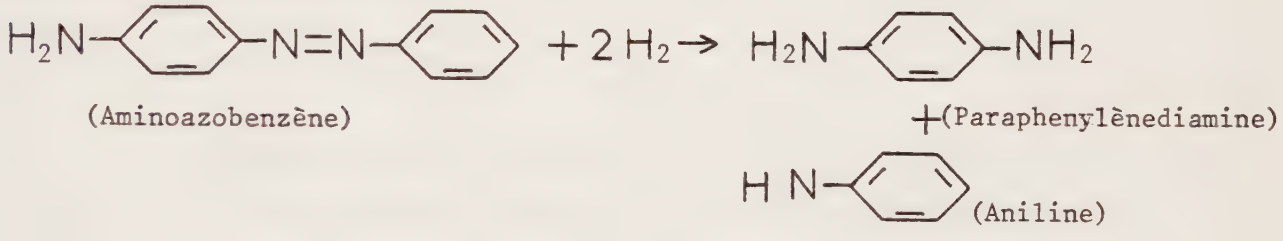
- Enfin, nous mentionnerons, en Hollande, une épidémie d'éruptions maculo-populeuses qui fut rattachée à un colorant rouge orangé utilisé dans une margarine. [37]

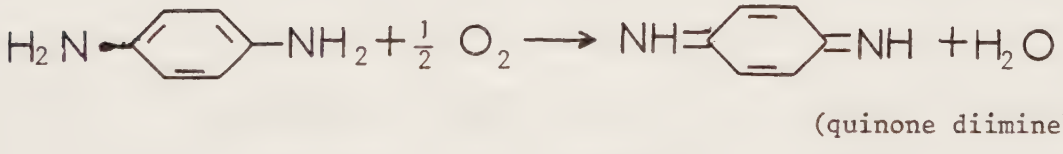
A) Mécanisme des réactions allergiques ou pseudo-allergiques

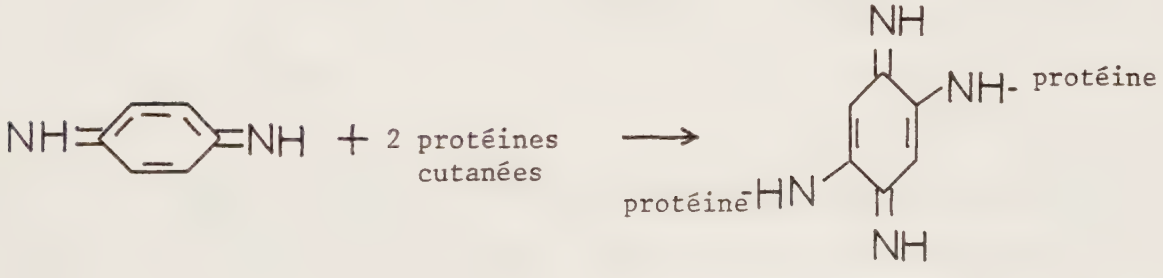
Leur physiopathologie n'est pas encore entièrement élucidée : les colorants semblent agir en tant qu'haptènes, mais d'autres hypothèses ont été avancées : inhibition de la P G synthétase (Tartrazine), action sur l'A M P cyclique, action histamino libératrice.

Dans le cas des azoïques, Rudolf MAYER [83] a précisé qu'après la réduction de la liaison azoïque un corps de structure quinonique, commun aux substances du groupe de la paraphénylène diamine (anesthésiques de synthèse, sulfamides et colorants azoïques) intervenait en s'unissant aux protéines riches en groupe S H (kératine ou collagène) pour former une macromolécule qui serait l'antigène actif, expliquant ainsi le phénomène de sensibilisation croisée.

Exemple de l'aminoazobenzène







La Tartrazine constitue l'exemple le plus connu et le mieux étudié de réaction croisée, en particulier avec l'aspirine, l'indométhacine et le benzoate de sodium entre autres. (cf. monographie correspondante)

Quels que soient les mécanismes impliqués, les symptômes les plus souvent observés appartiennent au type I (urticaire, rhinites, trachéites, oedème de Quincke, asthme ou choc anaphylactique) ou IV (dermites de contact, eczemas) de la classification de GELL et COOMBS.

Plus rarement on peut voir des purpura thrombopénique (type II).

B) Moyens d'étude du pouvoir sensibilisant

A côté des enquêtes alimentaires et de la recherche des médicaments colorés, les allergologues ont rapidement mis au point différents tests.

- La méthode de CHAFFEE et SETTIPANE ou test d'ingestion en double aveugle, consiste à faire absorber au sujet lors du petit déjeuner, une capsule contenant une solution à 2 % de colorant. Un intervalle de 2 jours est observé entre les tests. [13]

- La méthode de LOCKEY consiste à administrer par voie sublinguale des dilutions progressives du colorant toutes les 20 minutes. [52]

- Dans la méthode de JUHLIN ou test de la provocation par voie orale, le sujet reçoit également des doses croissantes de colorant (ex : de 0,75 à 5 mg de Tartrazine dissoute dans de l'eau). [4]

Ces tests sont pratiqués dans l'intervalle des crises chez les sujets allergiques, en excluant toute autre thérapeutique et en utilisant des placebo (lactose), les réactions locales et générales sont notées et un test n'est pratiqué qu'après disparition des symptômes précédents. L'alimentation doit évidemment être exempte de tout colorant.

- L'épicutanéo réaction (ou patch test) consiste à déposer en général sur le bras du sujet des dilutions définies du colorant, et à étudier l'action locale et éventuellement générale sur 72 heures. Ces examens pourront être modifiés en fonction de l'expérimentateur.

Des examens paracliniques tels les tests de stimulation lymphoblastique, les études de la formule sanguine (recherche d'éosinophilie), l'étude du V E M S chez les sujets asthmatiques pourront compléter cette étude.

Si les principes de ces tests semblent simples, leur interprétation est parfois très délicate.

En effet, comme nous le verrons plus loin, le principe toxicologiquement actif est souvent un métabolite intestinal qui n'interviendra donc pas dans le test sublingual ni dans l'épicutanéo réaction.

D'autre part, le produit actif peut être la résultante d'une interaction colorant-aliment ou colorant-médicament et il pourra donc y avoir erreur par défaut, le colorant étant testé seul.

Une autre cause d'erreur peut être l'origine industrielle différente de 2 échantillons de colorant d'où la nécessité de normes d'identité

et de pureté.

Les critères de positivité des tests reposant souvent sur des signes subjectifs (prurit, gène respiratoire, malaise...)devront être très prudents, tenant compte des délais d'apparition des signes et de leur durée et imposeront l'utilisation de placebo.

Enfin, les réactions observées peuvent ressortir d'autres mécanismes que l'allergie (activation métabolique du complément ou action histamino libératrice) et c'est pourquoi il pourra être utile de pratiquer des recherches d'I g E ou des études histologiques des zones d'épicutanéo réaction.

C) Les colorants sensibilisants et les réactions

Les principaux effets rapportés sont les suivants :

Tartrazine [38, 52, 88]

- choc anaphylactique, urticaire, oedème de Quincke, asthme, oedème et prurit de la luette et de la langue, purpura non thrombocytopénique, rougeurs occulaires, sudation, larmoiement, congestion nasale, éternuements, rhinite, enrouement, syndrome digestif, syndrome subjectif (démangeaisons, irritation oculaire, dyspnée, irritabilité, sensation de gonflement, fatigue, lourdeur de la tête, soif) ;

Erythrosine [16, 12]

- chéilites, urticaire chronique, oedème de Quincke, acné rosacée, syndrome d'allergie digestive ;

Ponceau 4 R [87, 12]

- urticaire chronique, oedème de Quincke ;

Jaune orangé S [12,88]

- urticaire chronique ;

Dans une enquête auprès de plusieurs centaines de dermatologues français H. GOUNELLE de PONTANEL et coll. ont évalué à 20 à 25 % les allergies

d'origine indéterminée. [38]

L'étiologie alimentaire était suspectée 93 fois sur 114. Lors de la recherche des aliments en cause, sur 213 réponses, on trouve 31 % de produits sucrés dont :

- jus de fruits, sodas, sirops..... 29 réponses ;
- bonbons, sucreries, confiseries..... 24 réponses ;
- pâtisseries..... 10 réponses.

D'autre part :

- charcuteries..... 20 réponses ;
- produits laitiers..... 22 réponses.

Les réponses à la question *"Un colorant alimentaire a-t-il été suspecté ?"* sont les suivantes :

Réponses positives

- oui sans précisions.....	23
- oui sans preuves.....	22
- oui rouge cochenille (E 124).....	1
- rarement.....	8
Total.....	54

Réponses négatives

- non sans précisions.....	26
- non pas de notions d'allergénicité..	7
Total.....	33

Divers

- répondu par ?	5
- non répondu.....	14
Total.....	19
T O T A L.....	106

Ici apparaissent les difficultés majeures de l'enquête étiopathologique face au nombre des substances ingérées et au manque de tests biologiques pratiques.

Nous indiquons ci-dessous le résultat de 3 études récentes chez des sujets porteurs d'urticaire chronique (1 et 2) et chez un groupe de sujets atteints de phénomènes allergiques divers (3) (urticaire, eczéma, allergies digestives). Les proportions indiquées sont celles des sujets à réaction positive par rapport aux sujets testés.

TABLEAU 1 [27]

TABLEAU 2 [87]

	Test de transformation lymphoblastique	Test cutané	Test de provocation sublinguale	Test de provocation orale
			[*]	
Tartrazine	9 / 35	4 / 35	3 / 7	20 / 96
Ac. carminique	7 / 34	5 / 34	4 / 7	5 / 86
Erythrosine	5 / 34	3 / 34	3 / 7	2 / 21
Rouge Ponceau	3 / 34	1 / 34	0 / 2	
Jaune orangé	0 / 34	1 / 34	0 / 1	13 / 86
J. de quinoléine				5 / 30
Indigotine				3 / 21

[*] sujets positifs aux deux premiers tests.

TABLEAU 3 [11]

Chez 66 malades présentant les pathologies suivantes		84 tests positifs furent observés	
Urticaires	16	Tartrazine	8
Urticaire + oedème de Quincke	1	Coccine N	8
Eczémas	18	Jaune S	9
Prurigos de l'adulte	5	Erythrosine	31
Acnés rosacées	7	Brun végétal	28
Glossodynée	1		
Aphtes	1		
Syndromes d'allergie digestive	10		
Migraines	3		
Syndromes complexes	4		

IX - CONCLUSION

A l'issue de ces études toxicologiques et afin de les concrétiser, une classification a été établie par le Comité mixte F.A.O./O.M.S. d'experts des additifs alimentaires en 1965 et une D J A a été attribuée, dans la mesure du possible, à chaque substance (cf. monographies). Les colorants ont été répartis entre les catégories suivantes : [67]

Catégorie A

Colorants jugés acceptables comme additifs alimentaires ; une D J A leur est attribuée.

Catégorie B

Colorants pour lesquels les données disponibles sont insuffisantes et qui ne peuvent être classés dans la catégorie A.

Catégorie C

Colorants au sujet desquels on ne dispose pas de données suffisantes pour procéder à une évaluation.

Catégorie D

Colorants au sujet desquels on ne possède pratiquement aucune donnée toxicologique.

Catégorie E

Colorants qui se sont révélés nocifs et qui ne doivent pas être ajoutés aux denrées alimentaires.

Cette classification est mouvante en fonction des connaissances scientifiques du moment, et, en définitive, c'est l'attribution d'une Dose Journalière Admissible qui constitue le critère d'utilisation du colorant.

Celle-ci est obtenue à partir de la dose sans effet établie lors des études toxicologiques (à long terme en particulier) en lui appliquant un coefficient de sécurité de l'ordre de 100.

Elle indique la quantité de la substance en question susceptible d'être absorbée quotidiennement par l'homme pendant toute sa vie, sans entrainer de risque.

LES COLORANTS AZOIQUES

HISTORIQUE

Ce sont les études de GRIESS depuis 1858 sur les corps diazoïques qui ont abouti à la mise en circulation des azoïques dont le premier inventé en 1863 par Martius fut le Brun Bismarck.

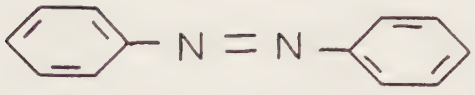
Actuellement on utilise plus de 650 colorants azoïques et ceux-ci constituent le groupe le plus important des colorants alimentaires synthétiques.

STRUCTURE

Chaque colorant de cette famille possède par définition une ou plusieurs doubles liaisons réunissant deux atomes d'azote (- N = N -) : liaison azoïque. Le prototype est l'azobenzène. [*schéma 1*] Les colorants azoïques dérivent de l'azobenzène (ou de ses homologues et analogues naphtaléniques) par substitution, aux atomes d'hydrogène des noyaux, d'au moins un auxochrome OH, NH_2, NHR ou NR_2 ; ils renferment éventuellement d'autres auxochromes, tels que CO_2H, SO_3H...

Ils sont presque exclusivement préparés par condensation des dérivés diazoïques (de formule $Ar\ N_2^+\ Ac^-$ ou Ar = aryle et Ac^- = radical acide) avec des phénols ou des amines aromatiques nucléaires chez lesquels le noyau porte au moins un atome d'hydrogène en position para (ou à la rigueur ortho) par rapport à la fonction phénol ou à la fonction amine.

Schéma 1



Azobenzène

Cette condensation appelée copulation, s'effectue en milieu alcalin dans le cas des phénols, en milieu légèrement acide dans le cas des amines.

La plupart des amines aromatiques nucléaires, à fonction simple ou à fonction mixte, étant diazotables, on peut ainsi opposer à de très nombreux diazoïques de très nombreux phénols ou amines, à fonction simple ou complexe, ce qui mène à de très grandes variétés de combinaisons, dont beaucoup sont des colorants intéressants.

De plus, les aminoazoïques à fonction amine primaire peuvent être rediazotés et recopulés avec des phénols ou des amines ; d'autre part, certaines diamines primaires fournissent des bis-diazoïques deux fois copulables.

D'une manière générale, les colorants azoïques très simples (azophénol, aminoazobenzène) ne présentent plus d'intérêt pratiques et l'on s'adresse actuellement à des monoazoïques complexes ou à des bis et même tétrabis-azoïques.

Les auxochromes CO_2H et SO_3H changent assez peu la couleur, mais par contre, ils rendent les molécules hydrosolubles en leur permettant de former des sels alcalins capables de s'éliminer rapidement. Ces substitutions, en particulier dans le cas du groupe aminé, jouent un rôle important dans le caractère sensibilisant de la molécule.

Dans cette famille chimique se trouve le prontosil (Rubiazol*) à l'origine de la découverte du premier sulfamide antibactérien : le sulfamilamide (Exoseptoplix*).

Les colorants azoïques actuellement autorisés en France pour la coloration des médicaments sont les suivants :

- Tartrazine E 102 (en voie de suppression) ;
- Jaune Orangé S E 110 ;
- Azorubine E 122 ;
- Rouge Cochenille A E 124 ;
- Noir brillant P N E 151 ;
- Rouge 2 G
- Jaune 2 G
- Brun chocolat H T
- Brun FK

) pas de code ;

METABOLISME DES COLORANTS AZOIQUES

Ces substances subissent d'importantes modifications métaboliques au niveau de l'intestin sous l'influence de la flore microbienne responsable du clivage réducteur de la liaison azoïque (ex : streptococcus faecalis chez le rat). Cette flore microbienne intestinale s'est montrée beaucoup plus active que l'azoréductase hépatique, en ce qui concerne le rat. Son action se localiserait surtout au coecum et à la partie distale de l'intestin grêle. Dans une étude menée par DIECKHUES [95] sur 102 composés azoïques soumis à l'action de trois bactéries (un streptocoque non hémolytique, un bacille pyocyanique et un proteus), seuls 12 d'entre eux résistèrent à la réduction.

Il est important de noter que les études toxicologiques faites sur les rongeurs ne peuvent tenir compte des différences considérables entre les flores intestinales de ces derniers et de l'homme, et que les traitements antibiotiques, par leur action sur les bactéries digestives

pourront modifier le devenir métabolique des colorants ingérés.

Si le rôle des microorganismes intestinaux est mieux cerné, les facteurs intervenant dans l'absorption intestinale des colorants et/ou de leurs métabolites sont mal connus. Cependant, BRODIE et HOGBEN ont émis une théorie selon laquelle les composés sont d'autant moins absorbés qu'ils sont plus polaires. [2] Les faits observés s'accordent à cette théorie, en particulier l'Amarante (E 123) et le Jaune orangé S (E 110) qui libèrent deux métabolites sulfonés, donc polaires sont très peu résorbés et par conséquent moins toxiques que les Ponceau 3 R et Orange n° 1 (non admis) qui libèrent des produits de scission sulfonés et non sulfonés ; les azoïques non sulfonés s'étant révélés les plus toxiques.

Les faibles quantités de colorant non clivé au niveau de l'intestin et passant dans le sang subissent des transformations hépatiques dues aux enzymes liées au réseau endoplasmique (azoréductases, N - déalkylases, hydroxylases) et les métabolites absorbés se retrouvent dans les urines sous forme libre, sous forme N - acétylée ou glycurono et sulfoconjuguée.

L'interaction des colorants alimentaires avec les protéines sériques a été étudiée par GANGOLLi et Coll. à l'aide d'électrophorèses sur bandelettes d'acétate de cellulose, sur gel de polyacrylamide et par filtration à travers une colonne de gel Sephadex. [28]

Les représentants des colorants azoïques, Noir PN et Jaune Orangé S ont été facilement séparés des protéines auxquelles ils étaient liés lors de l'électrophorèse sur acétate de cellulose. La labilité de la liaison colorant-protéine n'est cependant pas généralisable à l'ensemble des colorants d'une même famille. En effet, l'Amarante, autre colorant azoïque ne se sépare de la protéine liée que sur le gel de polyacrylamide, et

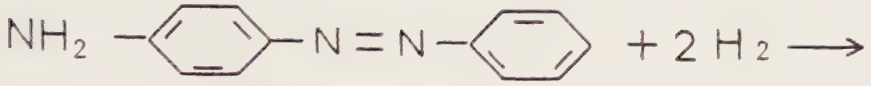
l'Eosine et l'Erythrosine, tous deux dérivés du Xanthène ont présenté des comportements électrophorétiques différents. Il ressort de cette étude que le lien électrostatique entre colorant et protéine peut être relativement solide et résister à la séparation électrophorétique des composants, ou bien être beaucoup plus faible. La famille chimique ne permettant pas de préjuger du type de liaison.

La formation d'un complexe et de son maintien par des forces considérables retardent l'absorption du colorant au site d'injection (dans le cas d'administration par injection sous cutanée) et influent sur la lésion locale infligée aux tissus. De façon plus générale, les liaisons fortes auraient plus de chance de permettre au colorant de développer une éventuelle action adverse.

T O X I C O L O G I E

1°) Sensibilisation - Allergie

De nombreux auteurs ont étudié ces phénomènes. Parmi ceux-ci SIDI et AROUETTE [83] ont éclairé les rapports entre colorants azoïques (C. A.) et groupe de la paraphénylènediamine (P. P. D.). La connaissance des sensibilisations croisées, après absorption ou contact, des colorants azoïques avec le groupe de la paraphénylènediamine remonte à 1928 quand Rudolf MAYER en précisait le mécanisme biochimique qui serait le suivant : la double liaison azoïque subit une scission qui entraîne la formation de 2 nouveaux corps [*Schéma ci-après*]



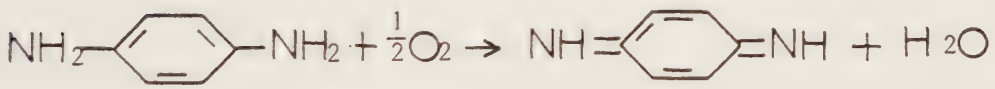
Aminoazobenzène

Paraphénylènediamine (PPD) Aniline

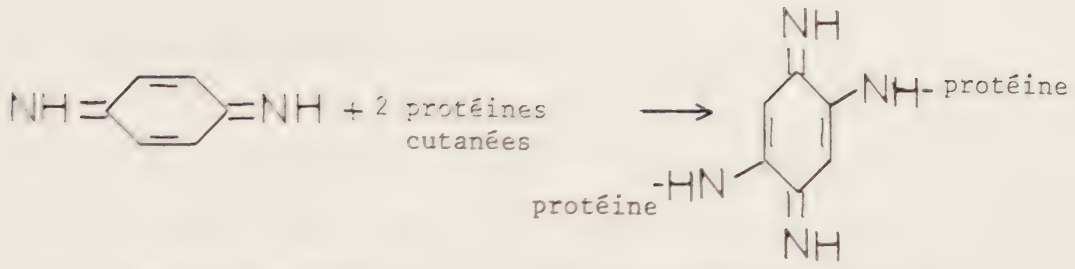
Dans le cas de l'aminoazobenzène, la scission aboutit à la P. P. D. elle-même. Dans le cas d'autres colorants, elle donnera tantôt des dérivés substitués de la P. P. D. ou d'autres corps benzéniques entrant dans le cadre du groupe de la para. Cette scission peut dans certains cas (bas de nylon, cosmétiques...) se produire au contact même de la peau, la chaleur et la sueur jouant un rôle important ainsi que certaines enzymes cutanées . L'ébullition, la conservation à un pH éloigné de la neutralité, le contact avec certains récipients métalliques peuvent également jouer un rôle dans ces réactions.

Rudolf MAYER émit l'hypothèse d'un métabolite quinonique commun à tous les corps du groupe, qui permettrait d'expliquer la sensibilisation croisée. [83]

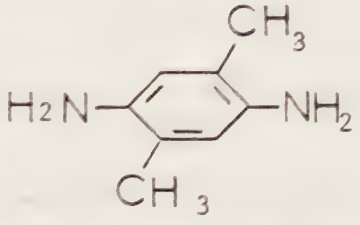
Pour la P. P. D., la réaction est la suivante :



La dégradation de chacun des corps du groupe de la para (anesthésique de synthèse, sulfamides et colorants azoïques) aboutirait à des corps quinoniques. Ceux-ci ayant une grande affinité pour les protéines riches en groupe SH, s'uniraient à certaines protéines de structure de la peau (Kératine et Collagène) pour former une macromolécule qui serait l'antigène directement responsable de la réaction allergique.



Ceci expliquerait que certaines paradiamines substituées sont dépourvues de pouvoir sensibilisant, les protéines ne pouvant plus se fixer sur les carbones substitués. Tel est le cas du 2 - 5 diméthyl 1 - 4 phénylènediamine.



Il est tentant de chercher à expliquer ces phénomènes de sensibilisation croisée par des analogies de structure chimique, et inversement, on est tenté de penser qu'un sujet sensible à un colorant azoïque l'est à tous ceux dont la structure chimique est voisine. Or il n'en est rien. La moindre substitution peut totalement modifier le pouvoir sensibilisant de ces colorants dans proportions imprévisibles.

En définitive, il existe un rapport très net entre colorants azoïques et paraphénylènediamine, expliqué par une réaction de scission de la liaison azoïque.

Ceci fait entrevoir l'importance des paramètres intervenant dans cette réaction de scission (durée et répétition des contacts, stabilité de fixation du colorant, facteurs individuels...).

Nous voyons donc qu'il est difficile et serait hasardeux de conclure à l'absence de nocivité au vu de la seule structure chimique d'une substance et les recherches sur la métabolisme propre et les éventuels effets nocifs de chaque colorant sont indispensables.

2°) Etude du pouvoir carcinogène

Il est bien établi que certains colorants azoïques ont un effet carcinogène. Celui-ci est surtout connu pour les dérivés liposolubles interdits dans l'alimentation et la fabrication des cosmétiques.

C'est le cas du Jaune de beurre ou paradiméthyl - aminoazobenzène, responsable de cancers du foie chez le rat après administration par diverses voies et de tumeurs de la vessie chez le chien.

D'autres colorants furent incriminés : le Rouge écarlate (sarcomes hépatiques), le Jaune soudan RR (hépatomes) [50] . On a essayé d'établir le rapport structure/cancérogénicité. On a cru pouvoir l'attribuer aux groupements basiques et notamment aux groupements aminés fonctionnels (ces corps, très peu hydrosolubles sont retenus dans les tissus gras et s'éliminent fort lentement).

On s'est donc efforcé de supprimer l'effet carcinogène des colorants aminés en introduisant dans leur molécule des groupements acides COOH, SO_3H ou OH phénoliques sur chacune des deux moitiés de la molécule séparées par le groupement azoïque de telle sorte que le clivage réducteur de cette fonction ne puisse libérer que des dérivés aminés polaires peu résorbables (la faible fraction résorbée étant, de plus, rapidement éliminée).

Malgré cette précaution, certains corps répondant à ces critères se révèlent expérimentalement carcinogènes tels :

- le Bleu trypan ;
- le Bleu Evans ;
- le Ponceau 3 R ;
- le Noir 5 410.

Ici encore, l'idée d'une relation simple structure/activité

carcinogène doit être abandonnée. En effet si le colorant lui-même peut paraître sans danger, les métabolites peuvent être beaucoup plus actifs ainsi que l'a montré V.A. GENIN [35] en étudiant la composition des urines de travailleurs exposés au contact à long terme avec 4 colorants azoïques (Direct Black 3, Direct Diazoblack, Direct Pure Blue, Direct Light Fast K U). La moitié d'entre eux présentaient de la benzidine ou de la dianisidine dans les urines. En conséquence, ceci démontre que les colorants concernés peuvent être métabolisés en agents carcinogènes.

Ceux-ci pourraient agir ensuite, selon l'état nutritionnel du sujet et/ou en s'associant aux autres facteurs de risque,(virus) sur les nucléoprotéines. Ainsi CHAUVEAU J et BENOIT A [14] ont démontré que le DAB 14 C^{x} (diméthyl aminoazobenzène) et le 2 méthyl DAB 14 C^{x} présentaient le même degré de fixation aux protéines totales hépatiques. Alors que le DAB 14 C^{x}, carcinogène aurait un taux de fixation au DNA beaucoup plus élevé que le 2 méthyl DAB 14 C^{x}.

Dans la même optique, YOSHIMOTO et Coll. [98] ont mis en évidence , *in vitro*, sur des nucléi isolés de foie de rat, l'inhibition de la synthèse de l'ARN par l'Amarante, le Rouge Ponceau, le Ponceau 3 R et l'Orange 1.

3° Enfin, dans un cadre toxicologique plus général, certains composés aminés peuvent se montrer toxiques, pour le système nerveux, le parenchyme hépatique, les testicules, la rate, les reins et le sang, où l'on peut détecter l'apparition de corpuscules de Heinz, indice d'intoxicication par les amines aromatiques qui en dérivent.

D'autres actions adverses disparates telles des troubles digestifs, troubles de croissance, des baisses du taux d'hémoglobine sont notés

par de nombreux auteurs. [50]

C O N C L U S I O N

Le métabolisme des colorants azoïques est assuré par différentes voies, selon le mode d'administration.

Per os, le rôle majeur de la microflore digestive est à souligner autant que les facteurs pouvant la perturber et les différences entre l'homme et l'animal d'expérience.

Les colorants participent à un métabolisme commun à bien des corps exogènes, toxiques ou non, et sont pris en charge par les enzymes microsomales hépatiques ; partant, ils peuvent modifier certaines voies de détoxication.

Glycuro, sulfoconjugaison et acétylations permettent leur élimination. Nous retiendrons la difficulté de généraliser la relation structure/activité et la multiplicité des produits de dégradation possibles, fonction de l'équipement enzymatique et de l'écosystème digestif individuel ainsi que des interactions aléatoires liées à l'environnement humain.

Tout essai de vue global du problème des colorants azoïques étant impossible il faut étudier séparément chaque composé admis en France.

PREAMBULE A L'ETUDE DES MONOGRAPHIES

Les études seront menées de la manière suivante : le nom usuel accompagné de ses synonymes (code européen, numéros correspondants de la 2e édition du Colour Index de 1956, Tables de Schultz, D F G)* précédera le nom chimique et la provenance.

Les formules brutes et développées seront ensuite données ainsi que les usages actuels et les recommandations du Comité mixte F A O/O M S d'experts des additifs alimentaires.

Puis les données métaboliques connues seront précisées.

En ce qui concerne les études toxicologiques qui répondent en général aux définitions données plus haut, la première colonne spécifiera l'animal étudié.

La seconde colonne indiquera (sauf précision complémentaire) les doses administrées quotidiennement en pourcentage de la ration alimentaire, en gramme et milligramme ou en millilitres accompagnés de la concentration.

La troisième colonne notera la voie d'administration :

- orale (ou per os) : p.o.
- intra-veineuse ou intra-musculaire : i.v. ou i.m.
- intra-péritonéale : i.p.

Dans la 4e colonne, (effets observés) seules ont été notées les anomalies statistiquement significatives relevées au cours des observations dont la méthodologie a été définie plus haut.

* Deutsche Forschungsgemeinschaft

J A U N E 2 G

Sel disodique du 1 (2,5 - dichloro - 4 - sulfo phényl) - 5 - hydroxy - 3 - méthyl - 4 (p - sulfophénylazo) pyrazole.

SYNONYMES : Yellow 2 G.

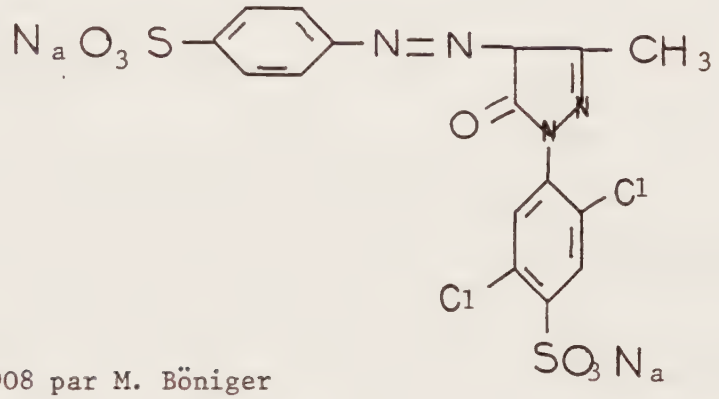
Coulour Index 2e édition (1956) : n° 18 965

Pas de Code européen.

COULEUR : Jaune.

FORMULE BRUTE : $C_{16} H_{10} O_7 N_4 Na_2 S_2 Cl_2$

FORMULE DEVELOPPEE :



Découvert en 1908 par M. Böniger

USAGES :

- tinctorial (acid Yellow 17) ;
- pharmaceutique.

Ce colorant ne fait pas partie de la liste des colorants autorisés dans Communauté Economique Européenne.

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S. [72]

Alors qu'en 1974 aucune évaluation n'avait été possible, en 1978 une DJA temporaire de 0 à 0,025 mg/kg/j a été établie.

METABOLISME]64,21]

La structure du Jaune 2 G est très semblable à celle de la Tartrazine et suggère un métabolisme identique. Il partage avec celle-ci une grande stabilité chimique. Cependant ce colorant n'a pas présenté les caractères allergisants de la Tartrazine et ceci constitue une raison supplémentaire pour poursuivre les investigations métaboliques.

L'élimination biliaire (96 %) après injection intra-veineuse et l'azoréduction intestinale (38 %) communes aux colorants azoïques est retrouvée ici, ainsi que la coloration rouge des selles que l'on a observée avec la Tartrazine.

TOXICITE AIGUE : il n'y a pas de résultats disponibles.

TOXICITE A COURT TERME : [33, 64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
RAT	0 à 1 %	p.o.	Distention coecale (1 %) ; Coloration des selles.
PORC	0 à 500 mg / kg	p.o.	Coloration des selles (50 et 500 mg/kg).

TOXICITE A LONG TERME : [64]

SOURIS	0 à 1,5 %	p.o.	Lymphomes sans signification statistique
RAT	0 à 1 %	p.o.	Chute de poids et baisse du pouvoir de concentration du rein (0,1 et 1 %).

CONCLUSION :

Le métabolisme est insuffisamment connu. Les études à court terme ne révèlent pas de toxicité importante et il ne semble pas y avoir de potentiel carcinogène dans les cas étudiés.

Des études d'embryotoxicité et de tératogénèse sont en cours. Le pouvoir mutagène n'est pas connu.

TARTRAZINE E 102

Bien que la Tartrazine appartienne à la liste positive de la C. E. E., le Ministère de la Santé a recommandé sa suppression en France.

Sel trisodique de l'acide (sulfo - 4' phénylazo - 1') - 4 [(sulfo - 4' phényl) - 1 hydroxy - 5 pyrazole carboxylique - 3]

SYNONYMES : Food Yellow 4, FD et C Yellow 5.

Colour Index 2e édition (1956) : n° 19 140

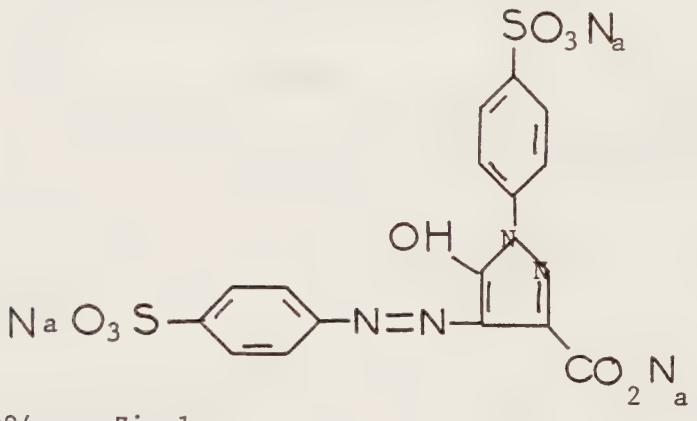
Tables de Schultz : 7e édition : n° 737.

D F G = 64.

COULEUR : Orangé soutenu.

FORMULE BRUTE : $C_{16} H_9 N_4 O_9 S_2 Na_3$

FORMULE DEVELOPPEE :



Découvert en 1884 par Ziegler

POIDS MOLECULAIRE : 534,4

USAGE ALIMENTAIRE COURANT :

- pâtisseries ;
- confiseries ;
- boissons avec et sans alcool ;
- caviar ;
- crevettes ;
- poissons séchés et salés ;
- croutes de fromage ;
- enveloppe de charcuterie.

AUTRES USAGES :

- pharmaceutiques ;
- tinctoriaux (acide Yellow 23 du Colour index) ;
- cosmétologiques ;
- et en imprimerie.

Une D. J. A. de 0 à 7,5 mg/kg a été fixée par le Comité Scientigique des Denrées Alimentaires de la C. E. E.

METABOLISME : [21, 78]

Administrée *per os*, la Tartrazine subit une azoréduction intestinale puis est absorbée et éliminée dans les urines sous forme d'acide sulfanilique et de dérivés pyrazolés.

Après injection intra-veineuse (rat, lapin et cobaye) le colorant est éliminé inchangé dans la bile et les urines.

TOXICOLOGIE :

Nous n'approfondirons pas les données toxicologiques qui n'ont montré aucun effet pathologique (carcinogène en particulier) après des études à long terme (2ans et plus) utilisant des concentrations atteignant 5 % chez la souris, le rat et le chien. [78, 97]

Cependant, les réactions allergiques à ce colorant, connues de longue date, et qui ont été réactualisées récemment, en particulier par le Docteur PRADALIER [1] et le Professeur H. GOUNELLE DE PONTANEL [37] méritent qu'on s'y attache.

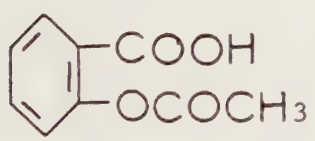
Dès 1958 des allergies aux colorants pharmaceutiques étaient relevées [9] et la Tartrazine évoquée en tête de liste ainsi que le confirme l'enquête faite par H. GOUNELLE DE PONTANEL [38] auprès des dermatologues français.

Actuellement, personne ne conteste plus la responsabilité de la Tartrazine contenue dans environ 600 spécialités et dans son étude, LOCKEY [52] rapporte les symptômes suivants observés lors de tests de provocation par voie orale chez des sujets allergiques :

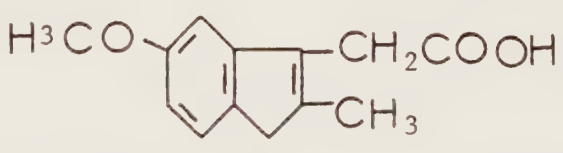
- prurit généralisé, urticaire, congestion de la face, érythème diffus ;
- conjonctivite, larmoiement ;
- rhinorrhée, congestion nasale, oedème de la langue ;
- dyspnée, crise d'asthme.

Il est à noter, d'une part la fréquence des réactions croisées avec l'aspirine, l'amidopyrine, l'indométhacine ou l'acide méfénémique et, d'autre part, la sensibilité à la Tartrazine existant chez les sujets présentant un asthme bronchique associé à une polypose nasale et une allergie à l'aspirine. (Syndrome de Fernand Widal)

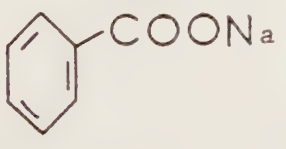
Cette réaction croisée serait due au catabolite pyrazolé (aminopyrazolone) de la Tartrazine.



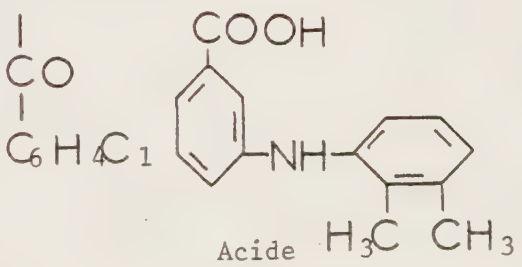
Aspirine



Indométhacine



benzoate de sodium



Acide méfénémique

CONCLUSION :

Le cas de la Tartrazine est très intéressant dans la mesure où il crée un précédent ; car, pour la première fois, les industries alimentaires et pharmaceutiques ont devancé la législation. En effet, alors que la suppression de la Tartrazine était proposée à l'Académie de Médecine et au Conseil Supérieur d'Hygiène Publique par le Professeur H. GOUNELLE DE PONTANEL, les industries ont commencé dès décembre 1977 à mettre cette proposition en pratique. Le Ministère de la Santé a depuis, recommandé l'arrêt de l'utilisation de ce colorant.

∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿

J A U N E O R A N G E S E 1 1 0

∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿

(Jaune Soleil)

Acide (sulfo - 4' - phénylazo 1') 1 hydroxy 2 - naphtalène sulfonique - 6 (sel disodique de 1')

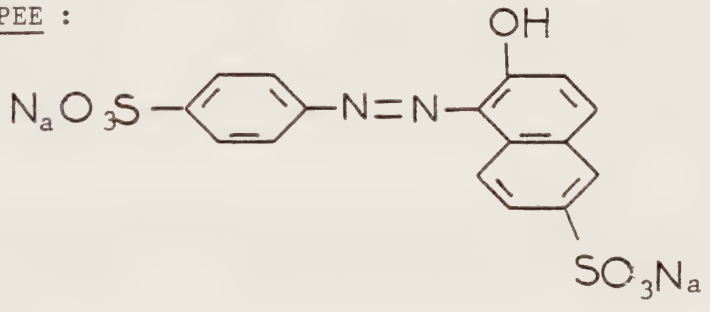
SYNONYMES : Jaune Soleil, Sunset Yellow F C F, Food Yellow 3 F D et C Yellow 6.

Colour Index 2e édition (1956) : n° 15 985 (Food Yellow 3). D F G 29.

COULEUR : Orangé rougeâtre plus ou moins soutenue.

FORMULE BRUTE : $C_{16} H_{10} N_2 O_7 S_2 Na_2$

FORMULE DEVELOPPEE :



POIDS MOLECULAIRE : 452,4

USAGES ALIMENTAIRES :

- confiserie ;
- crèmes glacées ;
- boissons avec ou sans alcool ;
- caviar, oeufs de lump ;

- crevettes ;
- poisson séché et salé ;
- enveloppe de charcuterie ;
- croutes de fromage ;
- pâtisserie ;
- dessert.

AUTRES USAGES :

- cosmétologique ;
- pharmaceutique (coloration des médicaments).

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S [30]

La D. J. A. établie par le Comité mixte FAO/OMS d'experts en 1965, de 0 à 5 mg/kg a été abaissée à 0 à 2,5 mg/kg/j. Il y avait discordance entre les classifications toxicologiques anglaise (groupe B, 1965) et internationale (groupe A, 1964). (Cf. chapitre toxicologique).

METABOLISME :

Après injection intrasplénique, la quasi totalité de la dose est rapidement excrétée dans la bile et les urines, sans transformation.

Dans l'intestin, seulement 3 % de la dose orale ingérée étaient absorbés sous la forme du colorant primitif, rapidement éliminés par la bile;et les selles ne contenaient que moins de 1 % du colorant.

Il semble donc que la majeure partie du colorant ingéré soit réduite dans le milieu intestinal par la flore digestive, [15] en métabolites qui sont ensuite absorbés, puis excrétés par voie urinaire.

Les métabolites retrouvés dans les urines sont l'acide sulfanilique et l'acide 1 - amino - 2 hydroxy 6 - naphtalène sulfonique. Environ 78 % de la partie phenylazo sont excrétés dans les 48 H. et environ 55 % de la partie naphtalénique le sont dans les 24 H.

Du fait de sa ressemblance structurale avec l'Amarante et de la propriété de celle-ci de perturber le stockage hépatique de vitamine A, une étude comparative a été menée par TRUHAUT [90] qui n'a pas retrouvé cette particularité dans le cas du Jaune Orangé S. Ce résultat ne permet cependant pas de préjuger des effets à long terme après altération éventuelle du parenchyme hépatique.

Le pouvoir sensibilisant a été mentionné en particulier lors d'un choc allergique au cours d'un lavement coloré [88] et CHAFEE F. H. et SETTIPANE G. A. [13] ont mis en évidence une augmentation du taux d'éosinophile à la suite de tests cutanés.

TOXICOLOGIE : [30, 32, 77, 84,]

Les études ont été assez approfondies.

TOXICITE AIGUE :

(TABLEAU page suivante)

ANIMAL D'EXPERIENCE	VOIE D'ADMINISTRATION		DL 50 g/kg
RAT (Mâle et femelle)	orale		10
SOURIS (Mâle et femelle)	orale		6
RAT	intrapéritonéale	Mâle	3,8
	"	Femelle	5,5
SOURIS	intrapéritonéale	Mâle	5,5
	"	Femelle	4,6

TOXICITE A COURT TERME :

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
RAT	0 à 3 %	p.o.	Diarrhées (3 %) ; Tests fonctionnels hépatiques, rénaux normaux ; Hématologie normale ; Augmentation de volume du caecum (2 et 3 %) et des testicules (3 %) ; Aucune modification histologique.

TOXICITE A LONG TERME :

RAT	0 à 1,6 %	p.o.	Aucun effet adverse ni carcinogène observé jusqu'au taux de 1,6 %
RAT	?	p.o.	3 études (1 an, 18 mois, 2 ans) n'ont pas montré d'effet toxique.
"	?	s.c.	Pas d'effet adverse
SOURIS	?		Pas d'effet adverse
CHIEN	?		Pas d'effet adverse

Le Jaune Orangé S a été testé sur des lignées de cellules d'embryon de rat FISCHER sans montrer de transformation carcinogène. La liaison colorant/protéines est faible.

Aucun pouvoir mutagène n'a été observé sur les lymphocytes sanguins humains (*in vitro*) ni sur les cellules sexuelles de rat (*in vivo*).

La recherche de corpuscules de HEINZ a été négative chez le chat et le rat. [30]

CONCLUSION :

L'étude à court terme demande à être complétée.

Le devenir métabolique chez l'homme est mal connu et le pouvoir sensibilisant, s'il n'est pas très important est néanmoins réel.

A Z O R U B I N E E 1 2 2

(Carmoisine)

Acide (sulfo - 4 naphtylazo - 1') - 2 - hydroxy - 1 - naphtalène sulfonique - 4 (sel disodique de 1').

SYNONYMES : carmoisine ; Naccarat.

Colour Index 2e édition (1956) : n° 14 720 (Food red 3).

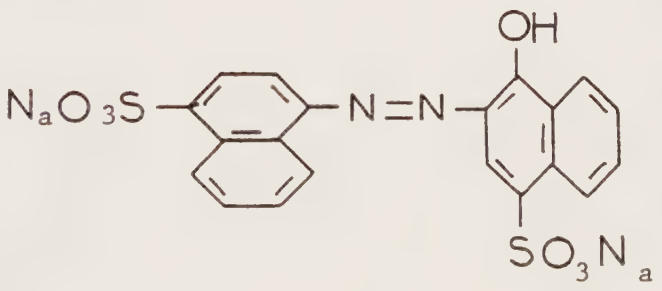
Tables de Schultz 7e édition : n° 208

D F G = 38

COULEUR : grenat marron plus ou moins violacé.

FORMULE BRUTE : $C_{20}H_{12}N_2O_7S_2Na_2$

FORMULE DEVELOPPEE:



Découvert en 1875 par le chimiste français ROUSSIN et non par WITT comme le prétendent les Anglo-Saxons.

POIDS MOLECULAIRE : 502,4

USAGES ALIMENTAIRES :

- confiserie ;
- crèmes glacées ;
- boissons avec et sans alcool ;
- fruits conservés dans un liquide.
- fromages ;
- caviar, oeufs de lump ;
- charcuterie.

AUTRES USAGES :

- pharmaceutiques ;
- cosmétologiques ;
- tinctoriaux (Acid red 14 du Colour Index) ;
- et en imprimerie.

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S. [64]

La dose journalière admissible de 0 à 0,5 mg/kg/j fixée en 1974 a été conservée. (D. J. A. temporaire).

METABOLISME : [64, 96]

Il n'a pas été suffisamment étudié. Comme tous les colorants azoïques, l'Azorubine est probablement réduite dans l'intestin par les azoréductases bactériennes.

Après injection intra-veineuse (rat) le taux de récupération biliaire du colorant était de 38 %.

TOXICITE AIGUE : [45,64]

ANIMAL	VOIE D'ADMINISTRATION	DL 50 g/kg
SOURIS	p. o.	1 000
	p. o.	8 000
	i. p.	900
	i. p.	800
RAT	p. o.	10 000
	p. o.	1 000
	i. p.	1 000
	i. p.	900 - 1 100
	i. v.	800

TOXICITE A COURT TERME : [56, 64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
RAT	15 mg	p.o.	Aucun effet toxique
RAT	0 à 1 %	p.o.	Hypertrophie rénale (femelles, 1 %)
PORC	0 à 1 g/kg	p.o.	Aucun effet adverse (hématologie, fonction urinaire, histologie, chimie du sérum, poids des organes).
RAT	0 à 8 %	p.o.	Ralentissement de croissance (6 et 8 %)

TOXICITE A LONG TERME : [45, 56, 64]

SOURIS	0 à 1,25 %	p.o.	Légère anémie au taux de 1,25 %
SOURIS	1 et 2 mg/j	s.c.	7 lymphomes et 1 tumeur intestinale (sur 30 sujets) ; les 60 témoins ont présenté 4 lymphomes et 1 tumeur intestinale
RAT	1 % de l'eau de boisson	p.o.	Aucune tumeur (seul critère étudié)
RAT	5 mg	s.c.	1 tumeur sur 10 sujets après 938 jours (seul critère étudié)
RAT	0 à 2 %	p.o.	Bronchite - Inflammation trachéale (12%)

Aucun effet mutagène n'a été observé chez Escherichia Coli.[64]

On n'a pas observé d'effet sensibilisant chez le cobaye.[64]

La recherche des corpuscules de HEINZ a été négative chez le chat.[64]

2 expériences de reproduction chez le rat (0 à 2 % de la ration et 1 % de l'eau de boisson) n'ont montré aucun effet adverse sur 3 générations.[44]

CONCLUSION :

Le métabolisme est mal connu et des études sont souhaitables chez l'homme et plusieurs espèces animales.

Une étude à long terme chez une autre espèce ainsi que des recherches sur l'embryotoxicité et la tératogénèse semblent indispensables.

ROUGE COCHENILLE A E 124

Acide (sulfo - 4' naphtylazo - 1') - 1 - hydroxy - 2 - naphtalène disulfonique - 6,8 (sel trisodique de 1').

SYNONYMES : Rouge Cochenille A ; Ponceau 4 R ; Ponceau Brillant ; Coccine nouvelle ; Acide carminique.

Colour Index 2e édition (1956) : n° 16 255 (Food red 7)

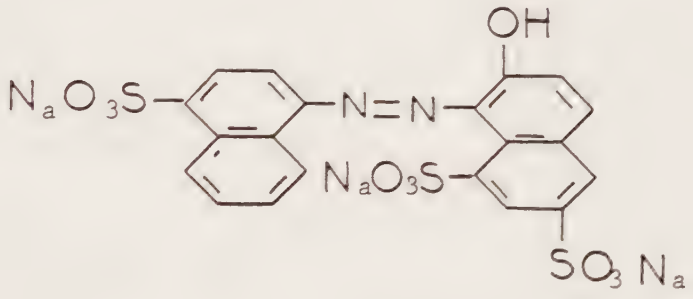
Tables de Schultz : 7e édition : n° 213

D F G = 41

COULEUR : Rouge écarlate vif

FORMULE BRUTE : $C_{20}\ H_{11}\ N_2\ O_{10}\ S_3\ Na_3$

FORMULE DEVELOPPEE :



Il est chimiquement voisin du Jaune Orangé S et du Ponceau 3 R.

Découvert en 1878 par BAUM.

POIDS MOLECULAIRE : 604,5

USAGES ALIMENTAIRES :

- confiserie ;
- crèmes glacées ;
- boissons avec et sans alcool ;
- fruits rouges conservés dans un liquide.
- caviar ;
- crevettes ;
- poisson séché et salé ;
- pâtisserie.

AUTRES USAGES :

- pharmaceutiques (dentifrice) ; - cosmétologiques ;
- tinctoriaux (Acid red 18 du Colour Index) ;
- cosmétologiques ;
- et en imprimerie.

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S. [64]

La D. J. A. adoptée en 1970 de 0 à 0,75 mg/kg/j a été révisée en 1974 et abaissée à 0 à 0,125 mg/kg/j. (DJA temporaire)

METABOLISME : [6, 64]

Il est mal connu. De même que les autres colorants azoïques, le Ponceau 4 R est réduit *in vitro* par le contenu du coecum du rat;après injection intra-veineuse, ces animaux l'excrètent sans modification dans la bile dans la proportion de 30 à 45 % en 6 H.

TOXICITE AIGUE : [64]

ANIMAL	VOIE	DL 50 mg/kg
SOURIS	p.o.	8 000
	i.p.	> 1 750
RAT	p.o.	> 8 000
	i.p.	2 000
- femelle	i.p.	2 600
- mâle	i.p.	600
	i.v.	1 000

TOXICITE A COURT TERME : [64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
RAT	0 à 2 %	p.o.	Diminution des transaminases, du nombre d'érythrocytes et du taux d'hémoglobine (2 %)
RAT	1 %	p.o.	2 décès sur un lot de 11 rats, dont un hépatosarcome
PORC	0 à 900 mg/kg	p.o.	baisse du nombre d'érythrocytes dans le lot recevant 900 mg

TOXICITE A LONG TERME : [64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
SOURIS	0,01 à 1,25 %	p.o.	Légère anémie (0,25 et 1,25 %) ; glomerulo-néphroses (0,25 et 1,25 %) ; absence de pouvoir carcinogène ; modifications histologiques hépatiques (1,25 %)
RAT	1 g/kg/j.	p.o.	1 sarcome du foie sur 11 sujets
RAT	0 à 3 %	p.o.	Chute de poids corporel ; augmentation de poids des reins, du coeur et du foie des femelles (3 %) ;
RAT	0,1 % et 0,2 %	p.o.	Aucune tumeur (seul effet recherché)
RAT	0,5 ml à 1 %	s.c.	5 décès sur 13 sujets (après 857 j) aucune tumeur

Aucun pouvoir tératogène n'a été observé dans 2 études chez le rat et la souris.[56]

Aucun effet mutagène n'a été noté sur Escherichia Coli.[64]

Une étude sur le cobaye n'a pas montré d'action sensibilisante.[64]

La recherche des corpuscules de HEINZ a été négative chez le chat.[64]

Une activité inhibitrice de la G 6 P D a été observée chez des rats recevant de la vitamine A et du Ponceau 4 R.

CONCLUSION :

Des études métaboliques chez plusieurs espèces, dont l'homme, seraient souhaitables ainsi qu'une étude à long terme chez une autre espèce et une étude de reproduction.

* *

P O U G E 2 G

* *

Sel sodique de l'acide 5 acétamido - 4 - hydroxy - 3 phénylazonaphtalène - 2,7 - disulfonique.

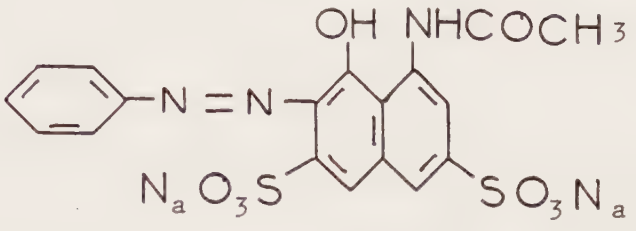
SYNONYMES : Red 2 G, Food Red 10, Acid Red 1.

Colour Index 2e édition (1956) : n° 18 050.

Il ne possède pas de code européen.

FORMULE BRUTE : $C_{18} H_{13} O_8 N_3 Na_2 S_2$

FORMULE DEVELOPPEE :



Découvert en 1902 par MEISTER LUCIUS et BRÜNING (Hoechst - Allemagne).

USAGES :

Ce colorant ne fait pas partie de la liste positive européenne des colorants alimentaires :

Usages alimentaires :

- confiserie ;
- viande ;
- confiture (Grande-Bretagne).

Autres usages :

- Cosmétologiques ;
- Pharmaceutiques ;
- Tinctoriaux (Acid Red 1).

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S. [72]

Une D. J. A. (norme indicative temporaire) de 0 à 0,006 mg/kg/j. a été proposée en 1977. (DJA temporaire)

METABOLISME : [66]

Après administration orale, chez le rat l'excrétion urinaire des métabolites est plus importante (61,8 à 71,5 %) que l'excrétion fécale (7,4 à 10,5 %). Les principaux métabolites retrouvés dans les urines sont indiqués dans le tableau suivant :

	Rouge 2 G	P amino-phénol	P aminophenyl-glycuronide	Aniline	O amino-phénol
RAT MALE :					
- urines	3 %	42,2 %		9 %	
- selles	0,1 %	6,3 %		1 %	
LAPIN (urines)		46 %	37 %	0,6 %	9 %

L'injection par voie intra-veineuse chez le rat, est suivie d'une élimination biliaire du colorant atteignant 64 % de la dose injectée.

L'incubation du Rouge 2 G en présence du contenu du caecum du rat aboutit à la formation de 2 métabolites principaux :

- l'acide 2 - amino - 8 - acétamido - 1 naphtol - 3,6 disulfonique,
- et l'aniline.

Le même résultat est retrouvé lors de l'incubation en présence d'homogénat de foie de rat.

Les études *in vitro* de l'action du Rouge 2 G sur des échantillons de sang de rat, de souris et d'humain n'ont pas montré de formation de corpuscules de HEINZ.

Le colorant ne semble pas se lier aux protéines sériques.

Des études biochimiques ont montré un parallélisme très net entre le taux de phenylhydroxylamine et d'une part, la splénomégalie et, d'autre part, la méthémoglobinémie.

TOXICITE AIGUE : [66]

ANIMAL	VOIE	DL 50 g/kg
SOURIS	p.o.	7.35
	i.p.	4.76 (4.13-5.85)
	i.p.	3.0-4.0
RAT	i.p.	6.35 (5.62-7.17)
	p.o.	>5.0
COBAYE	p.o.	4.81 (3.16-7.35)
	i.p.	3.00 (1.83-4.91)
LAPIN	p.o.	> 5.0
POULET	p.o.	> 10.0

Les examens histologiques ont montré des nécroses rénales extensives (rats, lapins, cobayes), des hémorragies focales sous arachnoïdiennes et une congestion des leptoméninges.

TOXICITE A COURT TERME : [66]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
SOURIS	0 à 1 %	p.o.	Apparition de corpuscules de HEINZ, splénomégalie, érythropoïèse splénique accélérée, méthémoglobinémie (> 0,02 %).
SOURIS	0 à 2 %	p.o.	Toxicité sanguine nette (modification de formule, corpuscules de HEINZ, anisocytose, poïkylocytose, réaction médullaire) ; coloration du tractus digestif supérieur (0,1 - 1 et 2%): splénomégalie congestive (1 et 2 %); hépatomégalie (0,1 - 1 et 2 %) ; augmentation du poids des reins ; pigmentation des cellules de Kupfer du foie.
RAT	0 à 5 %	p.o.	Retard de croissance, anorexie (2,5 et 5 %); Corpuscules de HEINZ ; toxicité sanguine : diminution du taux d'hémoglobine, des réticulocytes (5 %) ; splénomégalie (toutes doses) : hypertrophie rénale (2,5 et 5 %).
RAT	0 à 2 %	p.o.	Splénomégalie, érythropoïèse augmentée (à partir de 0,05 %) ; hémosidérose hépato-splénique et rénale ; hypertrophie rénale (0,5 - 1 et 2 %).
RAT	1 à 1,5 g/j	p.o.	Corpuscules de HEINZ ; légère anémie ; réticulocytose ; splénomégalie.
RAT	0-0,0024 0,0144 %	p.o.	Erythropoïèse augmentée, hémosidérose splénique ; hyperplasie thyroidienne, chute des poils (0,0144 %)

TOXICITE A LONG TERME : [66]

SOURIS	0-0,625 %		corpuscules de HEINZ, méthémoglobinémie, splénomégalie, érythropoïèse splénique accélérée (avec dépôts d'hémosidérine) (0,125 et 0,625%): pas d'effets carcinogènes observés ; 75 % des animaux vécurent plus de 2 ans.
RAT	0-0,16 %		splénomégalie pigmentée avec fibrose (0,064 et 0,16 %)

Aucun effet pathologique sur la reproduction n'a été constaté sur 3 générations.

CONCLUSION :

La toxicité sanguine est évidente et sans doute en rapport avec certains catabolites du Rouge 2 G. On ne possède pas de renseignement sur l'effet mutagène et une étude sur la moëlle osseuse semble indispensable.

Une D. J. A. très basse a été fixée.

N O I R B R I L L A N T P N E 1 5 1

Acide [(p - sulfo - 4 - phénylazo - 1) - 4' (sulfo - 7' naphtylazo - 1')] - 2 hydroxy - 1 acetyl - amino - 8 naphtalène disulfonique - 3,5 (sel tetrasodique de 1')

SYNONYMES : Noir acide brillant B N

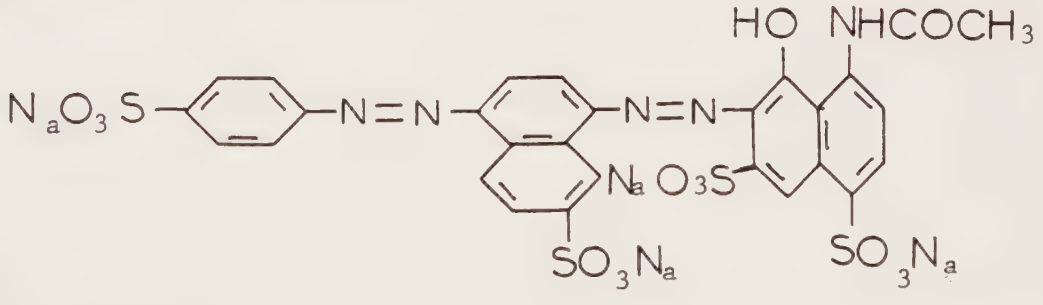
Colour Index 2e édition (1956) : n° 28 440 ; Food Black 1

D F G = 58 ; Brilliant Black BN.

COULEUR : noir grisâtre

FORMULE BRUTE : $C_{28} H_{17} N_5 O_{14} S_4 Na_4$

FORMULE DEVELOPPEE :



POIDS MOLECULAIRE : 867,7

USAGES ALIMENTAIRES :

- confiserie ;
- crèmes glacées ;
- boissons avec et sans alcool ;
- caviar ;
- crevettes ;
- enveloppes de charcuterie ;

- croutes de fromage.

AUTRES USAGES :

- Cosmétologiques ;
- Pharmaceutiques.

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S. [22]

Le Comité mixte n'attribua une D. J. A. au Noir Brillant P N qu'en 1974 où celle-ci fut fixée à : 0 à 2,5 mg/kg/j. (DJA temporaire), alors que le Comité scientifique de la C. E. E. pour l'alimentation la fixa à : 0 à 0,75 mg/kg/j., taux considérablement plus bas.

METABOLISME : [22, 64]

Les connaissances sont très imparfaites. Par voie orale, la métabolisation coecale partielle a été démontrée chez le rat et l'on n'a pas retrouvé de colorant dans les urines.

Après injection par voie intra-veineuse (lapins et chiens), on ne le retrouve qu'en faible quantité dans les urines.

Le principal métabolite urinaire est l'acide sulfanilique ainsi que de petites quantités d'acide 4 - acétamido - 1 - naphtylamine - 6 ou 7 sulfonique (chez l'homme on ne retrouve que l'acide sulfanilique).

Ces métabolites, accompagnés d'autres dérivés naphtaléniques et des traces du Noir Brillant lui-même sont également retrouvés dans les selles. Le destin des 2 catabolites naphtaléniques est inconnu.

Une inhibition de la pepsine et de la trypsine a été notée.

TOXICITE AIGUE : [64]

ANIMAL	VOIE	DL 50 mg/kg
SOURIS	p.o.	> 5 000
	i.p.	500 - 1 000
RAT	i.p.	1 100
	i.v.	2 500
	p.o.	> 2 000

TOXICITE A COURT TERME : [22,64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
RAT	0 à 3 %	p.o.	Les mâles (3 %) ont présenté un retard de croissance, une hypertrophie des testicules et des reins
PORC	?	?	Pas d'effet défavorable

TOXICITE A LONG TERME :[22, 64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
SOURIS	0,1 à 1 %	p.o.	Aucun effet adverse
RAT		s.c.	Aucune tumeur observée
RAT	0 à 1 % 0,06 g/kg 0,5 g/kg	p.o.	Aucune tumeur ni autre effet pathologique dans 2 études

Aucune action carcinogène n'a été mise en évidence lors des études à long terme. Cependant les premières sont insuffisantes.

La liaison colorant/protéines est faible. [28]

Aucun effet mutagène n'a été observé sur Escherichia Coli.[64]

Aucun effet sensibilisant n'a été observé sur le cobaye. [64]

Chez le chat et le rat, il n'a pas été noté de corpuscules de HEINZ. [64]

CONCLUSION :

On manque d'études métaboliques en particulier chez l'homme.

Aucune étude de tératogénèse, d'embryotoxicité et de reproduction n'a été effectuée.

B R U N C H O C O L A T H T

Sel disodique de l'acide (2,4 dihydroxy - 5 hydroxyméthyl - 1,3 phénylènediazo) bis (naphtalène - 1 sulfonique)

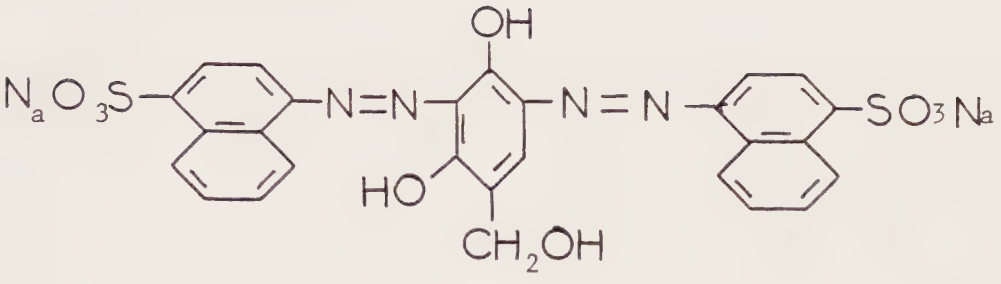
SYNONYMES : Food Brown 3, Reddish Brown, Chocolate Brown HT.

Colour Index 2e édition (1956) : n° 20 285.

Il ne possède pas de code européen.

FORMULE BRUTE : $C_{27} H_{18} O_9 Na_2 S_2 N_4$

FORMULE DEVELOPPEE :



USAGES : Ce colorant n'a pas d'usage alimentaire dans la C. E. E. ; coloration des pâtisseries, vinaigre et autres aliments aux U. S. A.

RECOMMANDATIONS DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S. : [72]

Une D. J. A. temporaire de 0 à 0,25 mg/kg a été adoptée en 1977.

METABOLISME : [66]

On ne possède quasiment aucune information hormis l'observation, *in vitro*, de la décoloration du BRUN CHOCOLAT HT par un homogénat de foie de rat.

TOXICITE AIGUE : [66]

ANIMAL	VOIE	DL 50 mg/kg
SOURIS		
Mâle	i.p.	300 (268 - 336)
Femelle	p.o.	> 2 000
	i.p.	220 (169 - 286)
RAT (Mâle		
(Femelle	i.p.	375 (317 - 444)
(Mâle		
(Femelle	p.o.	> 2 000

TOXICITE A COURT TERME : [66]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
RAT	0,5 à 2 %	p.o.	Retard de croissance des mâles (1 et 2 %) ; Légère insuffisance rénale dans les deux sexes (1 et 2 %) ; augmentation de poids relatif du cerveau, des glandes surrénales chez les mâles, de la rate et des reins dans les 2 sexes et des ovaires chez les femelles (2 %) ; pigmentation des cellules de Kupfer du foie, des tubes contournés proximaux des reins et des ganglions lymphatiques de l'intestin proportionnelle à la dose de colorant.
RAT	0 à 2 %	p.o.	Retard de croissance des mâles (1 et 2 %) et des femelles (2 %) ; légère anémie chez les mâles (2 %) ; baisse de l'urée sanguine ; augmentation des protéines sériques (0,6 et 1 %) ; pigmentation rénale intestinale et des ganglions lymphatiques (1 et 2 %).
PORC	0 à 100 mg/kg	p.o.	Légère anémie (toutes doses) ; pas d'incidence histopathologique

TOXICITE A LONG TERME : [23, 66]

SOURIS	0 à 0,5 %	p.o.	Retard de croissance, diminution de poids du coeur (0,5 %) ; leucopénie chez les femelles (0,5 %) ; coloration brune des organes ; infiltration leucocytaire du foie des femelles (0,5 %) ; pas d'effet carcinogène observé.
RAT	0 à 1 %		légère augmentation de la mortalité des mâles (1 %) ; pas d'effet carcinogène observé.

CONCLUSION :

Aucun effet carcinogène n'a été mis en évidence ; les études métaboliques sont quasiment inexistantes et aucune étude du pouvoir tératogène et de reproduction n'ont été menées. On ne possède pas de données sur les pouvoirs mutagène et sensibilisant.

B R U N F K

SYNONYME :

Il figure dans le Colour Index sans numéro et ne possède pas de numéro dans la nomenclature européenne.

Il s'agit d'un mélange de p sulfophenylazo dérivés de m - toluylènediamine et m - phenylènediamine.

STRUCTURE :

Des études chromatographiques ont mis en évidence 6 composants majeurs (76,5 %) ; les 23,5 % restants sont constitués d'un mélange de chlorure de sodium (Na Cl) et de corps non identifiés.

COULEUR : brune

USAGES ALIMENTAIRES :

Coloration des harengs fumés (Grande-Bretagne). Pâtisserie.

USAGES PHARMACEUTIQUES :

Coloration des médicaments.

TRAVAUX DU COMITE MIXTE FAO/OMS D'EXPERTS DES ADDITIFS ALIMENTAIRES : [72]

Lors du 21e rapport du Comité mixte F. A. O./O. M. S. (1978), aucune D J A n'a pu être fixée du fait de l'insuffisance des études toxicologiques en particulier pour la reproduction et le pouvoir tératogène.

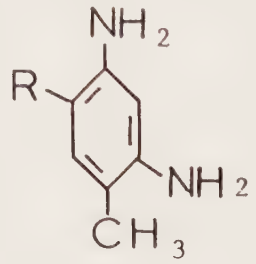
METABOLISME : [66, 96]

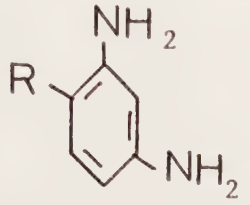
Le Brun FK absorbé *per os* est métabolisé (azo-réduction) dans le tractus digestif au niveau iléo-coecal par la flore intestinale. Puis de l'acide sulfanilique est éliminé dans les urines et les selles où l'on retrouve également un corps de structure phénazinique. Les urines contiennent une "substance bleue".

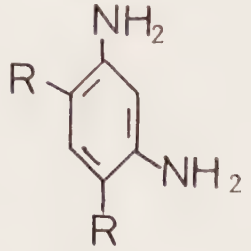
COMPOSANTS :

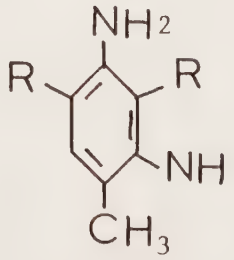
NOM	%	COULEUR
I - 2,4 diamino - 5 - (p - sulfophenylazo) toluène	18 %	orange
II - 1,3 diamino - 4 - (p - sulfophenylazo) benzène	17,4 %	orange
III - 1,3 diamino - 4,6 - bis (p - sulfophenulazo) benzène		brun rouge
IV - 2,4 diamino - 3,5 - bis (p - sulfophenylazo) toluène	13 %	orange
V - 1,3 diamino - 2,4 - bis (p - sulfophenylazo) benzène		jaune
VI - 1,3 diamino - 2,4,6 - tris (p - sulfophenylazo) benzène		brun terne

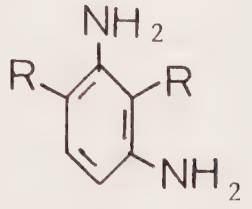
Les composés III et V constituent à eux deux 20,4 % du colorant.

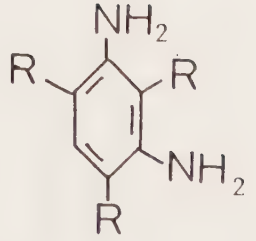












(L'incubation en présence de contenu du caecum et de l'iléon produit de l'acide sulfanilique, un corps phénazinique et d'autres substances qui n'ont pas été bien définies).

Par voie parentérale, (1,5 g/kg p.c.) le produit injecté entraine une coloration précoce des téguments et une léthargie. Une élimination biliaire brune est observée.

24 heures après, les urines sont colorées en orange puis de l'acide sulfanilique accompagné d'une "substance bleue" apparaissent. Le corps phénazinique est absent du caecum et des selles. Celui-ci est un mélange complexe dont les principaux composants sont le 1,4,7 triaminophénazine (P 1) et son homologue méthylé (P 2).

Le métabolisme du Brun F K est complexe du fait de ses nombreux composants qui ont chacun leur propre destinée. Deux d'entre eux ont été plus particulièrement étudiés :

- le 2,4 diamino - 5 - (p - sulfophenylazo) toluène (I) ;
- le 1,3 diamino - 4 - (p - sulfophenylazo) benzène (II).

Leur destinée est assez semblable : une petite partie est éliminée telle qu'elle, le reste étant réduit en acide sulfanilique et amines correspondantes (2,4,5 triaminotoluène et 1,2,4 triaminobenzène) éliminées après acétylation. Ces 2 composés ont une activité découplante de la phosporylation oxydative *in vitro* interférant avec la synthèse de l'A T P dans la cellule musculaire et déséquilibrant la

balance ionique cellulaire aboutissant à la mort de celle-ci.

TOXICITE AIGUE [66, 95]

ANIMAL	VOIE D'ADMINISTRATION	DL 50 mg/kg p. c.
SOURIS.....	(p. o.	2 000 (Na Cl)
	(p. o.	960 - 1 140 (sans Na Cl)
	(i. p.	1 500 - 2 000 (Na Cl)
	(i. p.	840 - 880 (sans Na Cl)
RAT.....	(p. o.	8 000 (Na Cl)
	(p. o.	780 - 970 (sans Na Cl)
	(i. p.	1 100 - 2 250 (Na Cl)
	(i. p.	960 - 1 150 (sans Na Cl)
COBAYE.....	(p. o.	2 160 (sans Na Cl)
	(i. p.	780 (sans Na Cl)
LAPIN.....	p. o.	390 - 590 (sans Na Cl)
POULET.....	p. o.	8 700 (sans Na Cl)

Lors de ces études, un effet myotoxique, précoce et prononcé fut observés et mis sur le compte des composants I et II. Par voie orale, seuls les rats étaient concernés et par voie d'administration intraveineuse, rats et souris présentaient des lésions musculaires et myocardiques, ce qui a fait évoquer le rôle des flores intestinales différentes des deux espèces. Cette hypothèse fut confirmée et les catabolites actifs identifiés : ce sont les 1,2,4 triaminobenzène et 2,4,5 triaminotoluène.

TOXICITE A COURT TERME [66]

ANIMAL	Dose/durée	VOIE	EFFETS
	(1 g/21 jours	p.o.	Chute de poids avec le colorant vieilli
	(		
SOURIS	(2 g	p.o.	Bonne tolérance
	(		
	(0 à 1 %	p.o.	Pigmentation des tissus (0,125), splénomagalie (0,250), hépatocardiomégalie, (0,5 %), chute de croissance, hépatosplénomégalie, hypertrophie testiculaire, lésions cardiaques (1 %).
	(0,5 g/kg	p.o.	6 décès sur 20 sujets ; 8 coeurs sur 18 étudiés présentaient des lésions de dégénérescence cardiaque.
	(-	i.p.	Aucun décès ; 1 coeur pathologique sur 8
	(0,1 %	p.o.	Aucun effet pathologique
	(1 g/kg	p.o.	Lésions des muscles squelettiques et du myocarde (vacualisation) ; augmentation de l'activité phophatasique acide ; diminution de l'activité phophorylasique ; dépôts musculaires de pigments.
RAT	(2 g/kg	p.o.	Rapide chute de poids puis décès ; atteinte musculaire et myocardique sévère non retrouvée après administration par voie intrapéritonéale.
	(1 g/kg	i.p.	Aucune atteinte musculaire ou cardiaque
	(0,1 à 1 g/kg	p.o.	Lésions cardiaques (A g/kg) ; dégénérescence oedemateuse des reins ; surcharge graisseuse du foie ;
	(0,1 à 1 g/kg	i.p.	Peu ou pas d'atteinte myocardique ; atteintes rénales et hépatiques.
	(0,1 à 1 %	p.o.	Pigmentation des tissus (0,25 %) ; hépatomégalie (0,50 %) ; chute de croissance, hépatomégalie, hypertrophie thyroidienne et testiculaire, lésions cardiaques,transaminase SGOT augmentées.
PORC	0 à 500 mg/kg	p.o.	Dépôts de pigments dans les organes (toutes doses) en particulier dans le coeur et les reins (mâles).

On a étudié la nature du pigment déposé dans les tissus. Il ne s'agit pas de lipofuscine mais d'un catabolite insoluble du colorant qui pourrait être le 1, 4, 7 triaminophénazine.

TOXICITE A LONG TERME : [66]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
SOURIS	0 à 0,625 %	p.o.	Fléchissement de croissance, mortalité augmentée (femelles) foie, rate, reins testicule augmentés de volume. Fibrose myocardique (0,625) ; cardiomégalie (0,125) ; modules hépatiques (0,075) ; pigmentation diffuse (0,037) ; carcinomes hépatiques : respectivement 3,2,0,5 : 6,2 pour les 6 groupes de 80 souris
RAT	0 à 0,5 %	p.o.	Splénomégalie et granulatomes hépatiques (0,5 %) ; pigmentation diffuse à partir de 0,06 %

Le Brun FK et ses composants I et II ont montré un important pouvoir mutagène chez Salmonella Typhimurium T A 1 538.

Ce pouvoir mutagène dépend de la présence du système enzymatique du foie de rat. [91]

Il n'est pas impossible que l'action mutagène de ces deux composés soit assurée par le même catabolite triaminé que l'effet myotoxique.

CONCLUSION

Le Brun FK qui ne fait pas partie de la liste positive des colorants alimentaires de la CEE est autorisé pour la coloration des médicaments. Il s'agit d'un produit complexe, de métabolisme tout aussi complexe qui a présenté essentiellement une myotoxicité chez les rongeurs (de la flore digestive) et un pouvoir mutagène chez Salmonella Typhimurium.

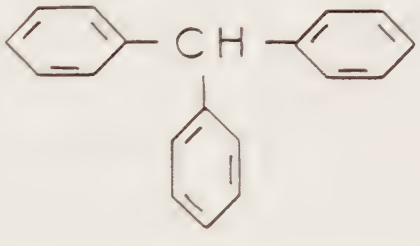
Le pouvoir tératogène n'a pas été étudié et le métabolisme chez l'homme est inconnu.

L E S D E R I V E S DU T R I P H E N Y L M E T H A N E

GENERALITES

Ils sont représentés par le Bleu patenté V et le Bleu brillant F C F, seuls dérivés utilisés en pharmacie.

La structure de base est celle du triphénylméthane sur laquelle viendront se brancher divers radicaux et fonctions aboutissant à de nombreuses molécules.



Structure générale

METABOLISME [6, 21, 41, 43, 78]

L'absorption digestive est faible grâce à un pka bas. Des études menées aux U. S. A. sur des dérivés du triphénylméthane ont montré qu'ils ne sont pas attaqués par la flore intestinale et sont excrétés pratiquement inchangés dans les selles.

Ces colorants, outre une grande acidité (groupements acide sulfonique), présentent une forte hydrosolubilité qui explique leur autorisation malgré leur propriété mentionnée dès 1937, d'induire des sarcomes locaux aux points d'injection sous cutanée, chez le rat.[89]

L'étude des liaisons entre colorants et protéines, effectuée par GANGOLLI et coll. [28] montre que certains dérivés du triphénylméthane (Vert solide F C F, Bleu patenté V, Bleu brillant F C F, Vert clair S F) ne sont que faiblement liés aux protéines sériques alors que d'autres (Violet 6 B) présentent de très fortes liaisons. Il est donc impossible d'en tirer une conclusion générale.

TOXICOLOGIE

1°) Sensibilisation

La famille du triphénylméthane est assez peu souvent invoquée lors de phénomènes d'hypersensibilité, mis à part le Bleu patenté V utilisé en lymphographie. Cependant LEDERER [50] note des réactions eczématiformes, des troubles gastriques, des diarrhées ainsi que des symptômes pneumoniques.

2°) Carcinogénèse

Dans le domaine de la carcinogénèse, de nombreux membres du groupe ont produit chez le rat des sarcomes locaux, aux points d'injection sous-cutanée. Parmi ceux-ci, le Vert lumière SF,
Vert solide F C F
Vert guinée B
Bleu Brillant F C F

le Violet acide 6 B,
la parafuchsine
le Vert fiolet de méthyl (également carcinogène *per os*)
le Bleu V R S (également leucémogène *per os*).

Cependant, on s'est aperçu que la fréquence d'apparition de ces sarcomes variait selon les conditions d'administration. Certains additifs alimentaires sont en effet capables de produire des sarcomes locaux en vertu de leurs propriétés physiques (tensioactivité, liposolubilité...) plus que par un effet carcinogène véritable.

Ce test ne constitue donc pas, pour les experts, une preuve de carcinogénèse chimique et c'est pourquoi, lors du 13e rapport du comité mixte d'experts F. A. O./O. M. S., des D J A sans réserve ont été fixées pour le Bleu brillant F C F et le Vert solide F C F.

Il est à noter que par voie orale, dans les cas du Bleu patenté et du Bleu brillant, aucun effet carcinogène n'a été retrouvé lors des études à long terme. [6]

3°) Action sur la synthèse de l'A R N, actions enzymatiques

L'action sur la synthèse de l'A R N a été étudiée par YOSHIMOTO [98], et LON LON LIAO [51] et les molécules testées (Bleu brillant, Violet acide, Vert clair) se sont révélées capables d'inhiber la synthèse de l'A R N dans les nucléi isolés du foie de rat.

Une autre inhibition enzymatique a été mise en évidence par TANAKA et coll. (1973) [85] : c'est celle de la leucine aminopeptidase dont l'activité décroît fortement *in vitro* sous l'action des colorants xanthéniques et dérivés du triphénylméthane. Une étude de 2 mois chez le

rat n'a cependant pas permis de mettre en évidence une modification d'assimilation.

4°) Toxicité

Enfin, dans l'ensemble, les expérimentations animales montrent que les dérivés du triphénylméthane étudiés ici sont peu toxiques dans l'état actuel de nos connaissances lorsqu'ils sont administrés par voie orale.

En CONCLUSION, nous constaterons une fois de plus qu'il est très difficile de dégager des caractéristiques générales liées aux familles chimiques et que l'étude approfondie et prolongée de chaque substance est indispensable.

B L E U P A T E N T E V E 1 3 1

Sel de Ca, Mg ou Na de l'acide disulfonique de l'anhydride du m - hydro tétraéthyl diamino triphényl carbinol.

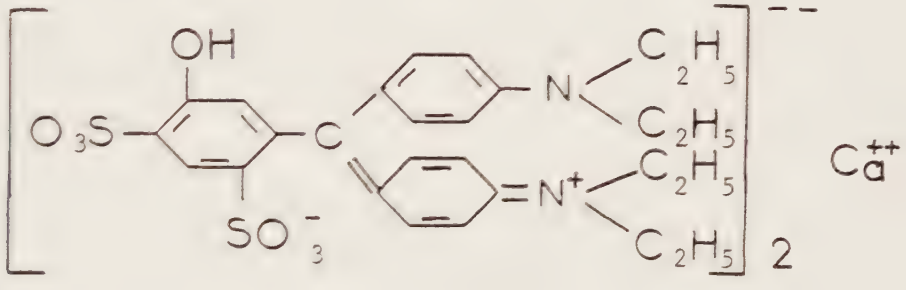
SYNONYMES :

Tables de Schultz 7e édition : n° 826.
Colour Index 2e édition (1956) : n° 42 051 (Food Blue 3).

D F G = 85 Alphazurine 2 G.

COULEUR : Bleu violet sombre

FORMULE DEVELOPPEE



Découvert en 1902 par STEINER.

Poids moléculaire : 1 159,4 (sel calcique).

Seul le sel calcique est utilisé en alimentation et en pharmacie.

USAGES ALIMENTAIRES :

- confiserie
- crèmes glacées
- boissons avec et sans alcool
- caviar, oeufs de lump
- crevettes
- enveloppes de charcuterie
- croutes de fromage.

AUTRES USAGES :

- pharmaceutiques ;
- cosmétologiques ;
- tinctoriaux (Acid Blue 1 du Colour Index)
- et en imprimerie.

Le sel sodique sert également au repérage et à l'étude des systèmes lymphatiques et artériels et à l'étude des zones nécrosées des brûlures profondes et étendues.

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S. [70]

La D J A de 0 à 1 mg/kg/jour fixée en 1970 a été supprimée en 1974, par absence d'éléments de réévaluation. La DJA temporaire de la CEE est de 2,5 mg/kg/j.

METABOLISME : [6, 21, 64]

On manque de renseignements sur le métabolisme de ce colorant. L'injection intra-veineuse est suivie d'élimination urinaire (chat). L'absorption digestive est très faible. Des colorants voisins étudiés aux U. S. A. sont excrétés pratiquement inchangés, dans les selles. La tensio-activité du sel calcique est faible.

Le degré de liaison aux protéines et l'activité lipophile sont négligeables dans le cas des 2 sels. La différence de tensio-activité superficielle expliquerait les différences des réactions locales aux 2 sels.

Il faut noter que lors de lymphographie, 2,5 % de réactions allergiques ont été observées. [60]

TOXICITE AIGUE : [64]

ANIMAL	VOIE	DL 50 g/kg de p. c.
SOURIS	p.o.	> 3,0 g
SOURIS	i.v.	1,2 g
RAT	p.o.	> 5,0 g
RAT	i.v.	5,0 g

TOXICITE A COURT TERME [64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
RAT	1 ml à 0,8 M	s. c. (2/semaine)	Légère réaction tissulaire inflammatoire.
CHAT	0,25 à 0,65 g par jour	p. o.	Aucun effet adverse

TOXICITE A LONG TERME [64]

RAT	1 %	p. o.	Aucun effet adverse ; les 3 générations suivantes sont normale.
RAT	1 ml de sol. à 1 %	s. c.	Aucune altération histopathologique ou sarcome au point d'injection

CONCLUSION

Il est à noter que le métabolisme de ce colorant est encore peu connu.

Bien que des études à long terme chez le rat n'aient pas révélé d'effet toxique significatif, une étude à long terme chez une autre espèce ainsi qu'une étude à court terme chez une espèce autre que les rongeurs semblent nécessaires.

Les effets mutagène et tératogène n'ont pas été étudiés.

Le colorant n'a pas provoqué de sarcomes sous cutanés.[50]

Une étude sur plusieurs générations de rats n'a pas montré d'effet adverse.

B L E U B R I L L A N T F C F

Sel disodique de la 4' - ([4 - (N - éthyl - p - sulfobenzylamino) - phényl] - (2 - sulfaniumphényl) - méthylène) - [1 - (N - éthyl - N - p sulfobenyzyl) - 2,5 - cyclohexadiène - imine).

SYNONYMES : Brillant blue F C F,

Colour Index : 2e édition 1956 : n° 42 090

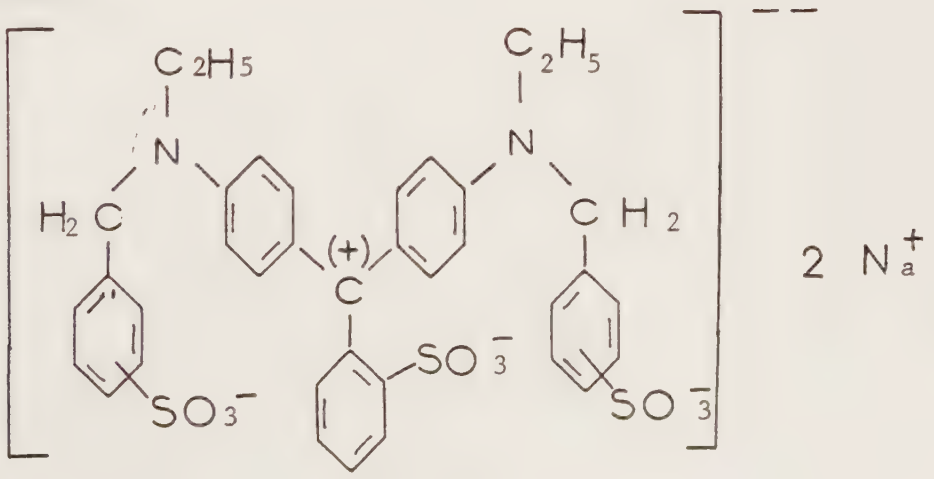
Bright Greenish Blue

Food Blue 2, F D C Blue 1

Pas de code européen.

FORMULE BRUTE : $C_{37}\ H_{34}\ O_9\ S_3\ Na_2\ N_2$

FORMULE DEVELOPPEE



Poids Moléculaire : 792,86

USAGES :

- alimentaires : il est autorisé au sein de la CEE depuis janvier 1978.
- pharmaceutiques
- tinctoriaux.

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S. D'EXPERTS DES ADDITIFS ALIMENTAIRES [74]

Une D J A sous réserve de 0 à 12,5 mg/kg/jour a été adoptée en 1970.

METABOLISME :

Une forte hydrosolubilité explique la baible absorption intestinale qui ne dépasse pas 5 % (chien). Après absorption orale, le colorant est éliminé inchangé dans les selles et dans la bile, (rat, lapin, chien) mais pas dans les urines. [41, 43] L'absorption semble liée à la vitesse du transit intestinal.

Par voie sous-cutanée (animal non précisé) des taux d'élimination fécale de 77 % et urinaire de 2,5 % ont été observés (élimination globale de 79,5 %). [74]

La liaison aux protéines sériques est labile et une inhibition de la synthèse de l'A R N dans les nucléi isolés du foie du rat a été observée [28,98]

TOXICITE AIGUE [74]

ANIMAL	VOIE	DL 50 (mg/kg p. c,)
Souris	s.c.	4 600
Rat	p.o.	> 2 000

TOXICITE A COURT TERME [74]

ANIMAL	DOSE	VOIE	Effets observés
SOURIS	2 mg/j	s.c.	Quelques hépatosplénomégalies
RAT	1 ml à 0,74 et 2 %	s.c. 2/sem.	Fibrosarcomes au point d'injection - 12/25 rats (0,74 %) - 24/40 rats (2 %)
RAT	10 à 15 mg/j	p.o.	aucune tumeur observée
CHIEN	1 et 2 %	p.o.	aucune lésion macro ou microcospique

TOXICITE A LONG TERME [55, 74]

SOURIS	1 mg/j	p.o.	Aucun effet carcinogène observé
"	4 ou 6 mg	s.c.	60 injections n'ont pas montré d'effet carcinogène après 78 semaines
RAT	4 %	p.o.	Coloration de l'estomac ; quelques dépôts granuleux ; pas de tumeur
	10 à 15 mg/j	p.o.	aucune tumeur
	0 à 5 %	p.o.	aucun effet adverse ; croissance, mortalité, aspects macro et microcospiques des organes, constantes hématologiques normales.
	0 à 3 %	p.o.	aucun effet adverse
	20 et 30 mg	s.c. 2/sem.	119 sarcomes aux points d'innoculation sur 168 rats étudiés
	1 ml à 2 ou 3 %	s.c.	14 fibrosarcomes aux points d'injection sur 18 rats étudiés

ETUDES SPECIALES : [74]

Une étude spéciale à court terme de la toxicité d'un des constituants du Bleu brillant F C F, l'O - sulfobenzaldehyde a permis d'établir une dose sans effet, par voie orale, chez le rat, de 2 %.

La recherche de corpuscule de HEINZ a été négative chez le rat.

Le Bleu brillant employé seul n'a pas induit de transformations révélatives d'un pouvoir carcinogène dans des cellules d'embryon de rat Fischer.

Cependant son association avec la Tartrazine a provoqué une transformation maligne.

Il est à noter que l'apparition de tumeurs après injections sous-cutanées a été mise sur le compte des propriétés physico-chimiques, plus que sur celui d'un pouvoir carcinogène propre. [78]

POUVOIR TERATOGENE

Une étude chez 2 espèces animales n'a montré aucun pouvoir tératogène. [21]

C O N C L U S I O N

On n'a pas observé d'effet toxique important, hormi la création de fibrosarcomes après administration sous-cutanée. Par voie orale aucun effet carcinogène n'a été retrouvé. Ce colorant a été peu étudié en France, n'appartenant pas jusqu'alors, à la liste positive des colorants alimentaires.

COLORANTS DERIVES DU XANTHENE

ERYTHROSINE J E 127

Tetra iodo fluorescéine (sel disodique ou dipotassique)

SYNONYMES : Food red 14, F D et C Red 3

Tables de Schultz, 7e édition : n° 887

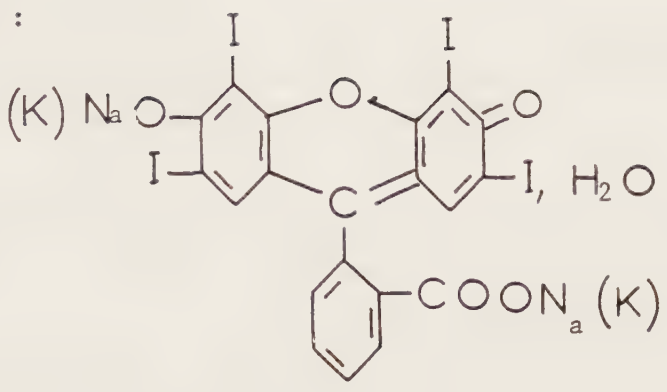
Colour Index, 2e édition (1956) : ,° 45 430.

D F G = 93 - Erythrosine B S

COULEUR : Rouge sang soutenu.

FORMULE BRUTE : $C_{20} H_{16} O_5 I_4 Na_2 ,OH_2$

FORMULE DEVELOPPEE :



Découvert en 1876 par KUSSMAUL

Poids moléculaire : K 912,1)
Na 879,9) (sel anhydre)

USAGES ALIMENTAIRES :

L'autorisation d'emploi de l'Erythrosine pour la coloration des denrées alimentaires fait obstacle à l'usage de récipients métalliques car la décomposition de l'Erythrosine en fluorescéine et iode est favorisée par la présence de fer ou d'acide organique.

- confiseries ;
- glaces ;
- crèmes glacées ;
- boissons avec et sans alcool ;
- sirop ;
- fruits destinés à être conservés dans un liquide, fruits rouges.
- caviar, oeufs de Lump ;
- crevettes ;
- poissons salés et séchés ;
- pâtisseries ;

AUTRES USAGES :

- en cosmétologie quand il est purifié ;
- tinctoriaux (Acid red 51 du Colour Index).

L'éosine (tétrabromo fluorescéine) est le même composé ou l'iode est remplacé par le Brome.

TRAVAUX DU COMITE MIXTE O. M. S./F. A. O. D'EXPERTS DES ADDITIFS ALIMENTAIRES [70]

La norme provisoire de 1970 (0 à 1,25 mg/kg/j) a été révisée en 1974 et fixée à 0 à 2,5 mg/kg/j, accompagnée d'une limite de concentration en fluorescéine de 0,1 %.

Les impuretés que l'on peut trouver sont des dérivés di et tri-iodés.

METABOLISME : [21, 64]

Il a été étudié chez le rat ; des doses de colorants ont été administrées *per os*. En 5 jours la totalité du produit a été récupérée dans les déjections.

Les fécès semblent être la principale voie d'élimination de l'Erythrosine (55 à 72 %) et bien qu'elle possède deux groupements susceptibles de former des conjugués, elle n'a pu être identifiée dans l'urine. Elle est passée en faible quantité dans la bile (0,4 à 1,7 %).

Dans les 4 premières heures suivant l'administration intraveineuse de 3 mg/kg de poids corporel d'Erythrosine, 55 % environ de la dose administrée ont été retrouvés dans la bile contre 1,3 % dans l'urine et il n'y a pas eu de conjugaison avec l'acide glycuronique.

On a envisagé la possibilité de libération d'iode par l'Erythrosine. Les résultats des études entreprises ont été assez divergents. Dans certaines études, l'Erythrosine semblait métaboliquement stable (élimination à 100 %) alors que dans d'autres, les augmentations du P B I et de l'iode sanguin total ont été mises sur le compte d'artefacts expérimentaux.

R. L. VOUGHT [94] démontre dans son étude sur les rats que 1/4 à 1/3 de l'iode contenu dans l'Erythrosine est métabolisé et participe à l'augmentation de l'apport d'iode.

En supposant un métabolisme équivalent chez l'homme, il conclut que l'absorption d'un plat quotidien de céréales colorées à l'Erythrosine augmenterait l'apport iodé d'environ 400 microgrammes, donc de manière substantielle. (A fortiori en cas d'absorption d'autres produits colorés : médicaments, confiseries, boissons, etc...)

Au contact de récipients bimétalliques (fer/étain) la réduction électrochimique aboutit à la formation de fluorescéine.

Aux concentrations de 200 à 400 mg/litre, le colorant inhibe l'action de la pepsine sans effet sur l'activité de la lipase.

Un effet hémolytique a, d'autre part été mis en évidence chez la souris ainsi qu'*in vitro*.

TOXICITE AIGUE [7, 64]

ANIMAL	VOIE	DL 50 (mg/kg de p. c.)	
RAT	p.o.	mâle	7 400
		femelle	6 800
	i.p.	mâle	340
		femelle	370
SOURIS	p.o.	mâle	6 700
		femelle	6 900
	i.p.	mâle	400
		femelle	320
LAPIN	i.p.		350
	i.v.		200
GERBILLE	p.o.		1 930

TOXICITE A COURT TERME [7, 8, 64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
RAT	0,25 à 2 %	p.o.	Dilatation caecale à toutes les doses ; hypertrophie thyroidienne (2 %) ; pigmentation des tubules rénaux des femelles (2 %) et chez les mâles (toutes doses). PBI augmenté (toutes les doses). Captation d'iode 131 réduite (iode tyroxinique normal) ; hématologie et fonction rénale normales.
PORC	0 à 1 500 mg/j	p.o.	Hypertrophie thyroidienne ; baisse de thyroxinémie ; seuil d'indifférence inférieur à 167 mg/kg/j.
RAT	5 à 50 mg 2 fois/semaine	p.o.	baisse du taux d'hémoglobine et du nombre des hématies ; baisse du cholestérol ;
RAT	0 à 2 %	p.o.	Métabolisme de base non modifié ; hypertrophie thyroidienne, pigmentation des tubules rénaux ;

TOXICITE A LONG TERME [64, 78, 40]

SOURIS	1 mg/j	p.o.	fréquence tumorale non augmentée
RAT	0 à 5 %	p.o.	ralentissement de croissance (5 %) ; distension caecale (0,5 %) ; histologie normale ; pas de tumeur observée.
RAT	4 %	p.o.	coloration et dépôts granuleux du tractus digestif ; 1 cirrhose du foie sur 10 sujets ; pas de tumeur.
RAT	0 à 5 %	p.o.	Fléchissement de croissance(5 %) et baisse de poids de la rate des femelles (5 %) et de tous les mâles. Examens histologiques normaux ; distension caecale (1 %).
RAT	5 mg	s.c.	aucune tumeur observée
GERBILLE	0 à 900 mg/kg 2 fois/semaine	p.o.	chute de poids (200, 750 et 900 mg) ; PBI élevé par la présence d'érythrosine ; aucune modification hématologique aucun effet pathologique macroscopique
CHIEN	0 à 2 %	p.o.	Aucun effet adverse observé

Aucun effet tératogène observé chez le rat et le lapin ; gestations normale.

Action mutagène significative due à la molécule de Xanthène sur Escherichia Coli.

L'Erythrosine apparaît être un colorant notablement allergisant (avec la Tartrazine et l'acide carminique). [27, 38]

CONCLUSION :

Le rôle de l'Erythrosine dans l'apport iodé est discuté. Des études métaboliques plus complètes chez d'autres espèces, y compris chez l'homme, sont nécessaires.

Il ne semble y avoir ni pouvoir carcinogène ni pouvoir tératogène chez les espèces étudiées, cependant le pouvoir mutagène a été démontré. [78] [97]

La D J A déterminée par BUTTERWORTH K. R. et coll. [8] de 1,6 mg/kg/j est inférieure à la D J A internationale actuelle (2,5 mg/kg/j.)

COLORANTS QUINOPHTALIQUES

JAUNE DE QUINOLEINE E 104

Mélange des acides mono et disulfoniques de quinophtalène et de quinolyl-indanedione (sel de Na).

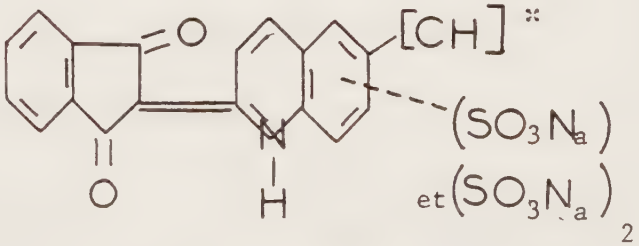
SYNONYMES : Tables de Schultz 7e édition : n° 918
Colour Index 2e édition (1956) : n° 47 005 - Food Yellow 17.

D F G = 97
D C Yellow 10

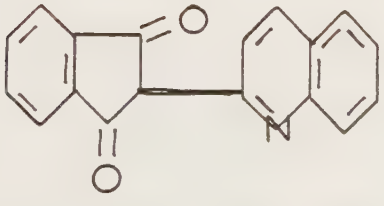
COULEUR : Jaune verdâtre

FORMULE BRUTE : $C_{19}H_9NO_8S_2Na_2$ et $C_{19}H_{10}O_5SNa$

FORMULE DEVELOPPEE :



et



Poids moléculaire :

- dérivé disulfoné = 477,4
- dérivé monosulfoné = 375,3.

Découvert en 1882 par JACOBSEN.

USAGES ALIMENTAIRES :

- confiserie
- crèmes glacées
- caviar
- enveloppe de charcuterie
- croute de fromage
- boisson avec et sans alcool

AUTRES USAGES :

- pharmaceutiques ;
- tinctoriaux (Acid Yellow 3 du Colour Index)
- cosmétologiques

TRAVAUX DU COMITE MIXTE D'EXPERTS F. A. O./O. M. S. [70]

La norme provisoire de 1970 (0 à 1 mg/kg/j.) a été abaissée à 0,05 mg/kg/j. en 1975 et maintenue temporairement en 1978.

METABOLISME : [6, 64]

On manque de résultats. Il est à noter qu'il existe 2 formes de Jaune de quinoléine : une forme déméthylée et une forme constituée d'un mélange méthylé et déméthylé.

Les études toxicologiques faites avec le mélange méthylé sont marquées d'un astérisque

TOXICITE AIGUE : [64]

ANIMAL	VOIE	DL 50 (mg/kg de p. c.)
RAT	p.o.	2 000

TOXICITE A COURT TERME : [64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
RAT *	0 à 5 %	p.o.	Aucune action adverse.
RAT *	1 ml à 2 %	s.c.	Aucune tumeur locale, fréquence tumorale non augmentée
CHIEN*	0,03, 0,2%	p.o.	Aucune action adverse

TOXICITE A LONG TERME [6, 64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
RAT	0 et 1 % et 0 à 0,1 %	p.o.	Aucune action adverse ; fréquence tumorale normale dans 2 études.

Aucun effet mutagène n'a été observé sur Escherichia Coli ; [64]

Aucun pouvoir tératogène n'a été observé dans 2 études chez le rat et le lapin. [64]

Aucun effet sensibilisant n'a été mis en évidence chez le cobaye. [64]

La recherche de corpuscules de HEINZ a été négative chez le chat. [64]

CONCLUSION :

Des études métaboliques chez plusieurs espèces, y compris l'homme sont nécessaires ainsi que des études à long terme chez d'autres espèces et sur plusieurs générations.

INDIGOTINE SYNTHETIQUE E 132

Sel de Na de l'acide indigotine disulfonique 5 - 5'.

SYNONYMES : Carmin d'indigo, F D et C Blue 2

Tables de Schultz 7e édition : n° 1 309

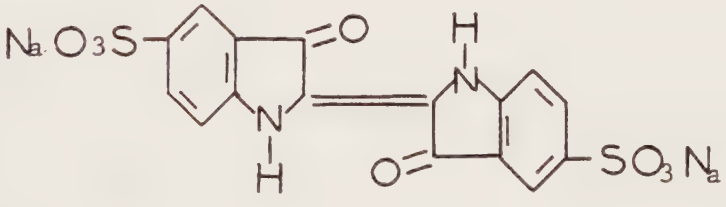
Colour Index 2e édition (1956) : n° 73 015, Food Blue 1

D F G = 105

COULEUR : bleu marine foncé

FORMULE BRUTE : $C_{16}\ H_8\ N_2\ O_8\ S_2\ Na_2$

FORMULE DEVELOPPE :



Découvert en 1740 par BARTH et synthétisé en 1870 par BAYER & EMMERLING

POIDS MOLECULAIRE : 466,4

USAGES ALIMENTAIRES : pâtisserie, confiserie, charcuterie.

AUTRES USAGES : pharmaceutiques, cosmétologiques, tinctoriaux (Acid Blue 74 du Colour Index).

USAGE MEDICAL : pour le repérage des uretères

TRAVAUX DU COMITE MIXTE D'EXPERTS F. A. O./O. M. S. [70]

En 1970, le Comité mixte a établi une D J A de 0 à 2,5 mg/kg/j.

qui a été révisée en 1974 et relevée à 0 à 5 mg/kg/j.

METABOLISME : [21, 31, 46, 64, 78, 86]

L'indigotine administrée par voie intra-veineuse (rats) est éliminée par le rein (63 %) et le foie (10 %).

2 métabolites, l'acide isatine - sulfurique - 5 et l'acide sulfo - 5 - anthranilique ont été mis en évidence dans l'urine.

Par voie orale, l'absorption est faible (3 %) et une décomposition intestinale partielle a lieu.

Un léger effet hypertenseur a été noté après administration parentérale chez l'homme.

L'acide isatine-sulfurique - 5 n'a pas montré de toxicité à court terme chez le rat (0 à 2 %).

TOXICITE AIGUE [64]

ANIMAL	VOIE	DL 50 (mg/kg de p. c.)
SOURIS	p.o.	2 500
	s.c.	405
RAT	p.o.	2 000
	i.v.	93

TOXICITE A COURT TERME [31, 64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
CHIEN	1 et 2 %	p.o.	La mortalité (50 %) était due à un virus. Aucune lésion n'a pu être mise sur le compte du colorant.
PORC	0 à 1 350 mg /kg	p.o.	Légère anémie chez 2/3 des mâles (1 350 (1 350 mg) ; aucun autre effet pathologique.
RAT	0,5 et 1 ml à 0,5 et 2 %	s.c.	Aucune tumeur cancéreuse observée
RAT	1 ml à 2 %	s.c.	Production d'une lésion fibroblastique précancéreuse

TOXICITE A LONG TERME : [21, 46, 64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
SOURIS	2,5 mg	s.c.	Nombreux décès lors de convulsions succédant immédiatement à l'injection ; aucune augmentation significative des tumeurs.
SOURIS	0 à 1,6 %	p.o.	légère anémie (0,8 et 1,6 %) ; aucun effet carcinogène
RAT	1 %	p.o.	Aucun effet pathologique
RAT	0 à 5 %	p.o.	Ralentissement de croissance (2 et 5 %)
RAT	1 ml à 2 %	s.c.	14 des 80 rats traités ont présenté un fibrosarcome au point d'injection (18%)
RAT	0,5 ml à 0,5%	s.c.	Aucune tumeur au point d'injection

L'étude sur des cellules d'embryon de rat Fischer a montré un pouvoir carcinogène dans une expérience sur deux et, chez le hamster, en injection sous-cutanées et intrapéritonéales, des fréquences tumorales de 11 et 31 % ont été relevées. [77]

Cependant, les lésions précancéreuses et cancéreuses observées dans 2 études à long terme n'ont pas été mises sur le compte d'un pouvoir carcinogène propre. [46]

Aucun effet tératogène n'a été observé dans deux études chez le rat et le lapin. [64]

Aucun effet mutagène sur Escherichia Coli n'a été décelé. [64]

Il n'a pas été noté de sensibilisation chez le cobaye ; cependant deux accidents mortels, probablement anaphylactiques ont eu lieu chez l'homme après injection intra - veineuse de Carmin d'Indigo, prouvant le pouvoir sensibilisant de cette molécule instable, qui peut d'autre part être contaminée par des traces de ses métabolites intermédiaires de synthèse, très sensibilisants. [93]

La recherche de corpuscules de HEINZ a été négative chez le chat. [64]

CONCLUSION :

Le pouvoir sensibilisant est rarement observé, par voie orale, cependant, par voie parentérale il semble bien établi. D'autre part, le pouvoir carcinogène est encore discuté.

COLORANTS D'ORIGINE VEGETALE

Leur étude ne diffère pas fondamentalement de celle des colorants de synthèse. Cependant, les données toxicologiques sont rares du fait d'un usage ancien et de l'origine naturelle dont on a cru qu'ils pouvaient assurer une absence de toxicité. Il n'en est rien et c'est pourquoi la distinction entre colorants naturels et de synthèse a été abolie. (Cf. 1ère partie chapitre II).

Il est à noter que, plus encore que pour les colorants synthétiques, des variations importantes de composition peuvent survenir du fait des climats, des conditions météorologiques et des procédés de récolte des végétaux et d'extraction des colorants.

Sur un plan pratique, le prix de revient élevé des colorants végétaux (50 à 100 fois plus chers que les colorants de synthèse) et leur altération plus rapide expliquent la préférence des industriels pour les produits de synthèse.

CAROTENOIDES

CAROTENE ET LYCOPENE E 160

Les Caroténoïdes sont des pigments naturels, jaunes, orangés ou rouges, tres courants dans la nature (feuilles, fleurs, cryptogames, crustacés...).

Le carotène brut est un carbure d'hydrogène (tétraterpène) de formule générale C_{40} H_{56} (mélange d'isomères) constituant une matière colorante rouge ou jaune, généralement hydrosoluble. Les caroténoïdes sont actuellement obtenu par extraction à partir de produits naturels ou par synthèse, ce dernier procédé assurant une pureté supérieure et une qualité constante.

TABLES DE SCHULTZ n° 1 403

COLOUR INDEX :n° 75 130 (Carotène naturel) Natural Yellow 26

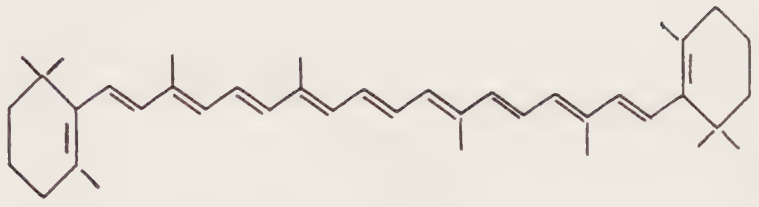
D F G = 108.

α , β et γ Carotène

Le β Carotène est le plus abondant dans la nature et constitue la provitamine A.

Le Carotène officinal est un mélagne d'isomères α et β à prédominance β . On l'extrait de la carotte, de la luzerne et de l'huile de palme.

FORMULE DEVELOPPEE



METABOLISME [6, 64, 82]

Il s'agit d'un constituant normal du régime alimentaire de l'homme et qui est ingéré pendant toute l'existence.

Le Carotène subit chez celui-ci une rupture oxydative de la double liaison centrale qui aboutit à 2 molécules de rétinal dont la réduction donne la vitamine A.

Les taux d'absorption intestinale sont assez variables selon les auteurs allant de 11 % chez l'adulte et 2,6 % chez l'enfant à 10 à 41 % chez l'adulte et 50 à 80 % chez l'enfant lorsqu'il est dissous dans l'huile. 30 à 90 % du Carotène est excrété dans les selles. La majeure partie du β Carotène absorbé traverse la paroi intestinale sans modification et atteint le foie où il pourra s'en accumuler une certaine quantité. A fortes doses, des dépôts se forment dans la couche cornée de la peau et dans les organes sans nécessairement accroître le taux sérique de vitamine A. Cette dernière est formée dans le jéjunum, le foie, les poumons, les muscles et le sérum, puis stockée dans le foie. Il est à noter que le β Carotène passe dans le lait. En soi, l'hypercaroténémie n'est pas nocive et ne donne normalement lieu à aucun signe d'hypervitaminose A.

Des doses importantes équivalentes à 40 000 à 70 000 unités internationales de vitamine A - ester par jour (par voie orale, i. p. et i. v.) n'ont montré aucun effet toxique chez le rat, bien que dans une autre expérience (doses équivalentes à 1 500 U. I.) une accélération de la croissance du tissus épithélial et des modifications du cycle oestral aient été mises en évidence. [64]

TOXICITE AIGUE [64]

ANIMAL	VOIE	DL 50 (mg/kg de p. c.)
RAT	i.m.	> 1 000
CHIEN	p.o.	> 8 000

TOXICITE A COURT TERME [6, 64]

	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
HOMME	60 mg/j	P.O.	Aucun effet adverse ; pas d'hypervitaminose
HOMME	plusieurs kg de carottes/jour		coloration de la peau

Plusieurs études chez le rat et le chien n'ont montré aucun effet toxique.

TOXICITE A LONG TERME [6, 64]

RAT	0 et 0,1 %	p.o.	L'étude sur 4 générations n'a montré aucun effet toxique.

CONCLUSION :

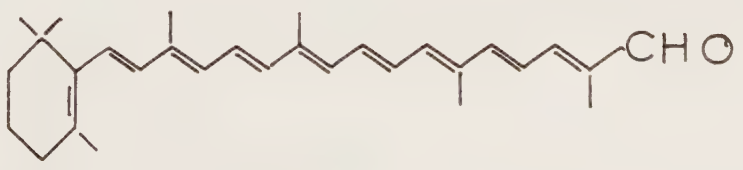
Des hypervitaminoses A ont été rapportées dans la littérature, mais sont sans rapport avec l'emploi de ce colorant comme additif alimentaire. D'autre part les études de toxicité à court et long terme ainsi que l'étude sur plusieurs générations de rats n'ont montré aucun effet toxique, carcinogène ou tératogène.

Beta apo 8'Carotenal

Substance également très répandue dans le régime végétal et qui constitue des cristaux violets à éclat métallique.

FORMULE BRUTE : $C_{30}\ H_{40}\ O$

FORMULE DEVELOPPEE :



POIDS MOLECULAIRE : 416,6

METABOLISME : [21, 64]

L'absorption intestinale, faible, est suivie d'un stockage hépatique (rat) ou d'une élimination urinaire (chien). Une coloration des graisses et du foie a été observée chez le singe. Le taux de transformation en vitamine A est inférieur à celle du β Carotène (75 %).

TOXICITE AIGUE : [6, 64]

ANIMAL	VOIE	DL 50 (mg/kg p. c.)
SOURIS	p.o.	> 10 000

TOXICITE A COURT TERME [36, 64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
RAT	0,100 et 500 mg/kg	p.o.	baisse de poids des testicules (500 mg/kg) ; dépôts hépatiques et rénaux de pigments ; fécondité normale
CHIEN	0, 0,1 et 1 g	p.o.	Augmentation du taux sérique de vitamine A (1g) ; taux tissulaires augmentés en particulier dans les reins ; pigmentation du tissu adipeux des reins et du cortex surrénalien.

TOXICITE A LONG TERME [6,64]

RAT	0 à 0,5 %	p.o.	l'étude sur 3 générations n'a montré aucun effet adverse.

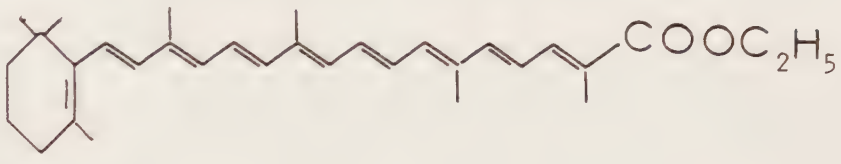
CONCLUSION :

Le taux de conversion inférieur au β Carotène et l'absortion intestinale étant faible, cette substance a été évaluée sur les mêmes bases que le β Carotène : D J A = 0 à 5 mg/kg et par jour.

Acide Beta apo 8' Caroténoïque (ester éthylique)

C'est un catabolite du β apo 8' caroténal.

FORMULE BRUTE : $C_{32}H_{44}O_2$



COULEUR : rouge orangé

POIDS MOLECULAIRE : 460,7

METABOLISME : [64]

L'absorption intestinale est d'autant plus faible que la quantité ingérée est grande et l'élimination sanguine est rapide. L'activité provitaminique A représente les 25 % de celle du β Carotène.

TOXICITE AIGUE [6, 64]

ANIMAL	VOIE	DL 50 (mg/kg de p. c.)
SOURIS	p.o.	> 10 000

TOXICITE A COURT TERME : [6,64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
RAT	0,100 et 500 mg/kg	p.o.	réduction du poids testiculaire (500 mg) dépôts pigmentaires hépatiques et rénaux spermatogénèse normale

TOXICITE A LONG TERME : [64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
RAT	0 à 1 %	p.o.	Aucun effet adverse n'a été observé sur 4 générations.
RAT	1 %	p.o.	Aucun effet observé alors qu'un groupe de témoins positifs recevant 7 500 U. I. de vitamine A présentait des signes d'hypervitaminose.

CONCLUSION :

Les données toxicologiques sont encore incomplètes. Il ne semble pas y avoir d'accroissement notable du taux de vitamine A. Ce colorant a été évalué sur les mêmes bases que le β Carotène ; D J A = 0 à 5 mg/kg/j.

L Y C O P E N E

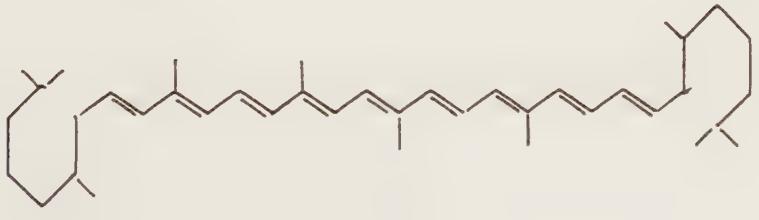
Il fait partie du groupe des caroténoïdes. Extrait de la tomate, c'est un constituant habituel de notre alimentation mais il peut aussi être obtenu par synthèse.

SYNONYMES : Natural Yellow 27

Colour Index : N° 75 125.

FORMULE BRUTE : $C_{40}H_{56}$

FORMULE DEVELOPPEE :



USAGES : alimentaires et pharmaceutiques (identiques aux autres Caroténoïdes).

La documentation scientifique étant remarquable par sa rareté, le Comité mixte F. A. O./O. M. S. n'a pu établir ni norme d'identité, ni D J A. [6, 70]

XANTHOPHYLLES ET CANTHAXANTHINE E 161

SYNONYMES :

Tables de Schultz : n° 1403

Colour Index 2e édition (1956) : n° 75 135 (Natural Yellow 27).

D F G = 144.

Il s'agit de dérivés hydroxyliques ou cétoniques du Carotène. Très abondants dans la nature on en distingue 7 ; seule la Canthaxanthine a fait l'objet d'études toxicologiques plus approfondies.

Ils participent à la coloration jaune des feuilles.

1) FLAVOXANTHINE

C'est la moins colorée des Xanthophylles.

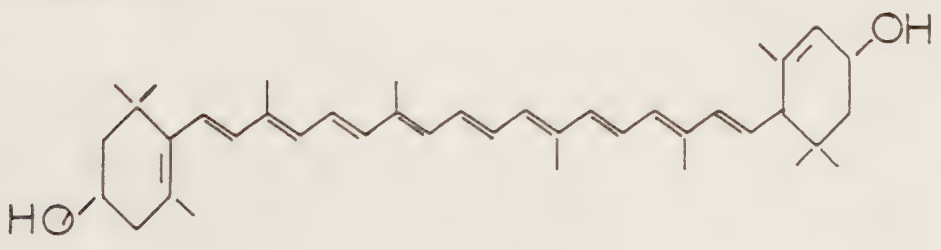
2) LUTEINE

Xanthophylle courante (jaune).

Dihydroxy - 3,3' αCarotène.

FORMULE BRUTE : $C_{40} H_{56} O_2$

FORMULE DEVELOPPEE :



Poids moléculaire = 568,8

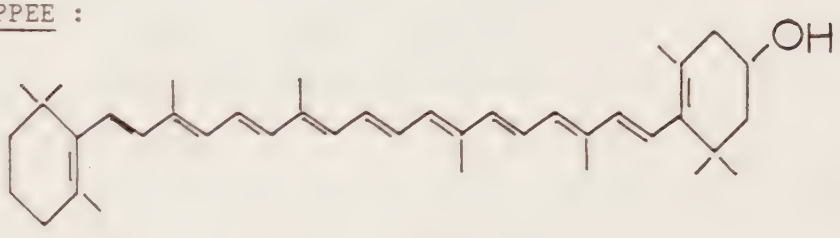
C'est l'alcool caroténoïdique le plus diffusé dans la nature (jaune d'oeuf, orties, algues, pétales jaunes).

3) CRYPTOXANTHINE

Jaune (oeuf, beurre).

FORMULE BRUTE : $C_{40} H_{56} O$

FORMULE DEVELOPPEE :



Poids moléculaire : 552,8

4) RUBIXANTHINE

5) VIOLOXANTHINE

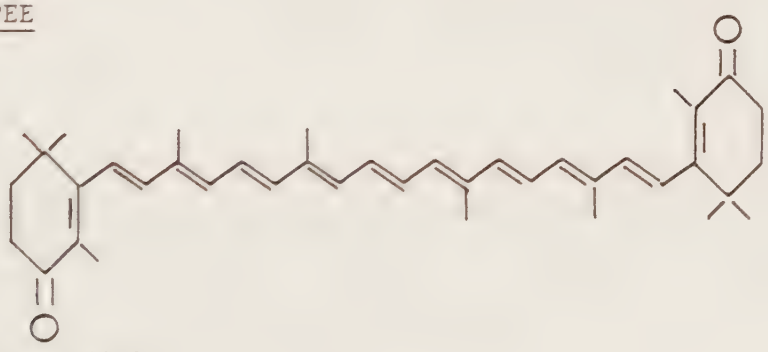
6) RHODOXANTHINE

7) CANTHAXANTHINE E 1 6 1

Cette substance rouge est extraite de la chanterelle (girolle).

FORMULE BRUTE : $C_{40} H_{52} O_2$ (c'est l'all-trans 4,4' dicéto β-Carotène)

FORMULE DEVELOPPEE



POIDS MOLECULAIRE : 564,8

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S.

En 1974 a été fixée une D J A révisée de 0 à 0,25 mg/kg/j. [70]

METABOLISME :

Le métabolisme des Caroténoïdes (cf. monographie) a été assez bien étudié. Il est établi que ce composé n'a pas d'activité provitaminique A.

TOXICOLOGIE [6, 64]

TOXICITE AIGUE

ANIMAL	VOIE	DL 50 (mg/kg p. c.)
SOURIS	p.o.	10 000

TOXICITE A COURT TERME :

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
CHIEN	0, 100 et 400 mg/j	p.o.	Etat général et poids corporel normaux

TOXICITE A LONG TERME :

RAT	0 et 0,1 %	p.o.	L'étude sur 3 générations n'a mis en évidence aucun effet adverse.
RAT	0 à 5 %	p.o.	Aucun effet pathologique ; mortalité et incidence tumorale normales.

CONCLUSION :

Ce dérivé du Carotène n'a pas présenté d'effet toxicologique notable, cependant les études sont relativement sommaires.

C U R C U M A ET C U R C U M I N E E 100

Le Curcuma est extrait du rhizome d'une herbe vivace, le Curcuma Longa L que l'on trouve dans les régions chaudes (Java, Chine, Madagascar). Il produit une essence volatile, une résine, de l'amidon et 3 % d'une matière colorante : la Curcumine.

SYNONYMES :

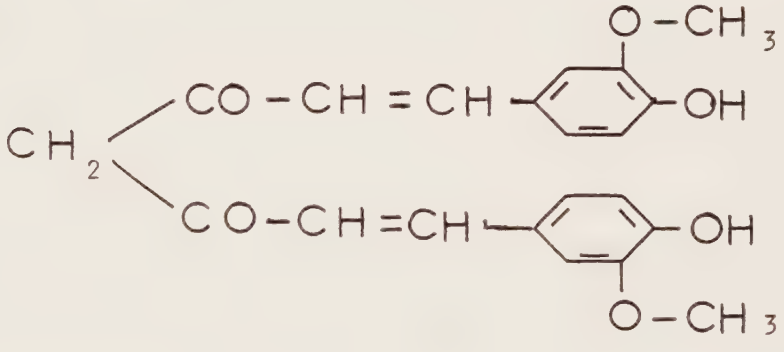
Colour Index, 2e édition (1956) : n° 75 300

Natural Yellow 3

D F G = n° 139

FORMULE BRUTE : $C_{21} H_{20} O_6$

FORMULE DEVELOPPEE :



Poids moléculaire : 368,4

USAGES :

- colorant textile très employé en Orient ;
- alimentaire : épices, potages, produits laitiers ;
- pharmaceutiques : colorant

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S. [73]

La D. J. A. a été fixée en 1974 à : 0 à 2,5 mg/kg/j. pour le Curcuma et à : 0 à 0,1 mg/kg/j. pour la Curcumine. La Curcumine est admise sans D J A dans la liste positive des colorants de la C. E. E.

METABOLISME : [64]

Il est mal connu. Une élimination accrue de sels biliaires accompagnée d'une baisse du taux de cholestérol sérique a été observée chez le rat (0,1 % de l'alimentation).

TOXICITE AIGUE :

On manque de données.

TOXICITE A COURT TERME : [6, 21, 64]

Aucun effet adverse n'a été observé à la dose de 1 % chez le chien (2 sujets).

TOXICITE A LONG TERME : [6, 21, 64]

Aucun effet adverse, carcinogène en particulier, n'a été observé chez le rat à la dose de 0,5 %. La première génération n'a présenté aucune anomalie.

CONCLUSION :

Une étude à long terme chez une autre espèce que les rongeurs ainsi que des études de reproduction, embryotoxicité et tératogénèse seraient souhaitables.

On manque de données métaboliques, en particulier chez l'homme.

ROCOU ET BIXINE E 160

BIXINE :

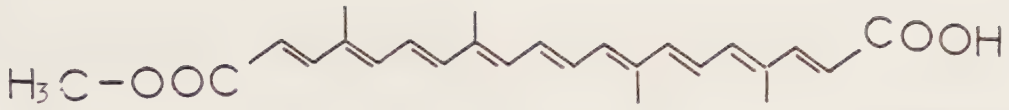
Tables de Schultz : n° 1 387
Colour Index 2e édition (1956) : n° 75 120 (Natural Orange 4)
D F G = 109

ROCOU :

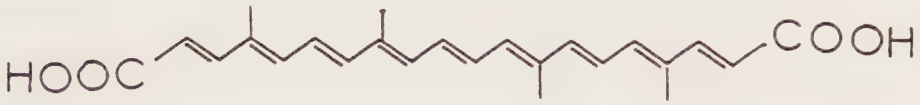
Pigment caroténoïde extrait des graines d'un arbre tropical le ROCOUYER (Bixa Orellana L) : Antilles, Guyane, Brésil, Japon, Ceylan.

SYNONYMES : Rocou Annatto ou Jaune d'Orléans.

Il est obtenu par extraction acqueuse suivie d'une fermentation du péricarpe du fruit du rocouyer. Le principe colorant est essentiellement constitué de Bixine (qui peut être synthétisée).



BIXINE



NORBIXINE

BIXINE : $C_{25}H_{30}O_4$ NORBIXINE : $C_{24}H_{28}O_4$

Poids moléculaire : 394,5 Poids moléculaire : 380,5

COULEUR : Rouge Orangé

La Bixine est accompagnée d'autres colorants voisins (Norbixine, Orelline, produits d'oxydation).

Elle est soluble dans l'eau et les lipides ; peu oxydable à l'air

USAGES ALIMENTAIRES :

- Charcuterie
- produits laitiers
- potages
- sauce
- desserts

AUTRES USAGES :

- pharmaceutiques ;
- tinctoriaux.

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S. [70]

Une DJA temporaire de 0 à 1,25 mg/kg/j. a été établie en 1974.

METABOLISME :

Il est très mal connu ; une légère action antispasmodique et hypotensive a été mise en évidence.

TOXICITE AIGUE : [64]

ANIMAL	VOIE	TYPE D'EXTRAIT	DL 50 (mg/kg de p. c.)
Souris	i.p.	hydrosoluble	700
Rat	p.o.	liposoluble	> 50 ml
"	"	liposoluble	> 25 ml
"	"	hydrosoluble	> 35 ml

TOXICITE A COURT TERME : [6, 64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
SOURIS	0,1 ml	s.c.	Pas d'effet carcinogène évident
RAT [3]	0 - 2 %	p.o.	Aucun effet adverse
"	0 - 1 g	p.o.	Aucun effet adverse
RAT [2]	0,05 ml	s.c.	Aucune tumeur locale
CHIEN	0 et 2,7 % puis 1,35 % [2]	p.o.	Une dégénérescence hépato-cellulaire chez une chienne ; pas d'autre effet pathologique
CHIEN	0, 5, 10 et 20% [1]	p.o.	inhibition de croissance et réduction de consommation de nourriture (20 %) examens histologiques normaux
PORC	0 et 1 % [3]	p.o.	Aucun effet adverse

[1] = extrait hydrosoluble

[2] = extrait liposoluble

[3] = extrait hydro et liposoluble

TOXICITE A LONG TERME [6, 64]

SOURIS	10 % [2]	p.o.	Aucun effet adverse
"	0,5% et 0,1 ml [2]	p.o. s.c.	Formations kystiques avec nécrose locale aux points d'injection ; fréquence tumorale normale
RAT	26 mg/j [2]	p.o.	Aucun effet observé.
RAT	0 et 0,5 % [3]	p.o.	L'étude de 2 générations filles n'a montré aucun effet sur la reproduction, la croissance, l'incidence tumorale, et la mortalité.
RAT	0 et 5 % [2]	p.o.	Aucun effet pathologique dans la 1ère génération ni chez les parents

L'étude sur des cultures d'Escherichia Coli n'a montré aucun effet mutagène. [64]

CONCLUSION :

Les données métaboliques sont très insuffisantes mais des études sont en cours. Il ne semble pas y avoir d'effet carcinogène ni tératogène (2 études de reproduction). Aucun effet sensibilisant n'est mentionné.

C A R A M E L E 1 5 0

SYNONYMES :

Natural Brown 10 du Colour Index
Il est mentionné sans numéro au Colour Index 2e édition 1956.

Sous le nom de Caramel se regroupent de nombreux produits complexes, mal définis, qui se forment par chauffage de divers glucides en présence d'une gamme étendue d'acides, de bases et de sels, (ammoniaque, sulfate d'ammonium) dans différentes conditions de température et de pression.

Il est formé, entre autres, des colorants suivants :

- Caramélane = $C_{24} H_{36} O_{18}$
- Caramélène = $C_{36} H_{48} O_{24}$
- Caraméline = $C_{96} H_{102} O_{51}$

USAGES ALIMENTAIRES :

- boissons avec et sans alcool ;
- produits laitiers ;
- charcuterie.
- confiseries ;
- pâtisseries ;

USAGES PHARMACEUTIQUES :

- sirops.

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S. [72]

La D J A de 100 mg/kg par jour n'a été conservée en 1978 que pour le caramel issu du procédé au sulfate d'ammonium (ou sans ammoniaque) ; le procédé à l'ammoniaque n'ayant pas été évalué.

METABOLISME : [6,64]

Le Caramel peut être considéré comme un constituant naturel du régime alimentaire de l'homme, puisqu'il peut apparaître après cuisson de certains aliments ou chauffage du saccharose.

Aucune discrimination toxicologique n'est justifiée entre le caramel produit par chauffage du saccharose et les caramels du commerce, à l'exception de ceux préparés par des procédés à l'ammoniaque ou aux sels d'ammonium qui donnent une intensité colorante plus élevée.

Dans les produits de réaction du glucose avec l'ammoniaque, en solution acqueuse, divers dérivés imidazoliques et pyraziniques ont été isolés.

L'un d'eux, le méthyl -4- imidazole est un convulsif puissant, responsable, chez le lapin, la souris, et le poulet, des signes neurologiques analogues à "l'hystérie violente" du bétail et à la "folie" des poulets alimentés avec des mélasses ammoniacales inverties.

Des dosages ont trouvé jusqu'à 0,07 % de méthyl -4- imidazol dans certains caramels. La teneur maximale actuellement autorisée est de 200 mg/kg.

Les colorants au caramel contiennent en général 50 % de glucides digestibles, 25 % de glucides non digestibles et 25 % de mélanoïdine que l'on trouve dans d'autres aliments chauffés (café, viandes...).

Il semble qu'un tiers des constituants colorés soient absorbés, mais aucune conclusion n'a pu être tirée quand à l'absorption des substances incolores.

TOXICITE AIGUE : [64]

ANIMAL	VOIE	DL 50 (mg/kg)
RAT	p.o.	> 20 400
SOURIS	p.o.	> 10 000
LAPIN	p.o.	> 15 000

TOXICITE A COURT TERME : [34, 64, 66]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
SOURIS	0 à 16 %	p.o.	Selles sombres et pâteuses, ralentissement de croissance, lymphocytopénie (16 %) ; hypertrophie du caecum (4, 8, 16 %).
RAT	0 à 30 %	p.o.	7 études utilisant des échantillons de caramel contenant des taux croissants de méthyl -4- imidazol (environ 150, 350, 830 et 1 750 PPM) ont montré les effets suivants, proportionnels au taux de méthyl - 4 - imidazol : - ralentissement de croissance (2 % et plus dans 3 études) ; - diarrhées (3 études) ; - hypertrophie caecale constante ; - lymphocytopénie avec polynucléose neutrophile (0,5% et plus dans 4 études) - coloration des ganglions lymphatiques (6 études).
RAT	0 à 20 %	p.o.	12 études sur des groupes de 5 à 20 rats n'ont montré aucun effet adverse (pourcentage de méthyl - 4 - imidazol non précisé).
CHIEN	0 à 25 %	p.o.	Aucun effet adverse (4 lots de 3 chiens)

TOXICITE A LONG TERME : [26, 34, 64, 66]

RAT	0 à 15 % 200 à 850 PPM de m.-4-i.	p.o.	Légère anémie (mâles) ; leucopénie (10 et 15%) ; pigmentation des ganglions lymphatiques ; Fréquence tumorale normale ; nombreux décès dus à une infection intercurrente.
RAT	0 à 6 %	p.o.	Ralentissement de croissance (par réduction d'alimentation) ; leucopénie et lymphocytopénie au début de l'étude (6 %) ; baisse de poids de la rate ; hypertrophie caecale ; fréquence tumorale normale

4 études de 21 jours (1,5 à 24 g/j.) effectuées chez des hommes volontaires n'ont pas permis de retrouver les modifications de la formule sanguine observées plus haut. Par contre, une hypermotilité intestinale

avec diarrhée a été retrouvée 3 fois sur 4. Les autres examens biologiques étaient normaux.

2 études de reproduction chez des rats (0 et 10 %, p.o.) n'ont montré aucun effet pathologique , sur la reproduction. Légère augmentation de mortalité des descendants recevant la dose de 10 % (600 PPM de méthyl-imidazole).

Dans 4 études, chez des rats (0 à 1 600 mg/j., p.o.) aucun effet tératogène ne fut observé.

Le colorant n'a présenté aucun pouvoir mutagène sur des cultures de Salmonella Typhimurium et Saccharomyces Cerevisiae.

CONCLUSION

Les études toxicologiques sont nombreuses, mais les normes d'identité de colorant (pourcentage de méthyl - 4 - imidazol) souvent mal précisées. Des normes distinguant les procédés à l'ammoniaque et au sulfate d'ammonium ont été établies.

Il semble que les effets neurologiques du méthyl -4- imidazol à forte dose soient négligeables dans l'utilisation qui nous intéresse.

Cependant la baisse des leucocytes et lymphocytes circulant, controversée dans le cas du caramel au sulfate d'ammonium et démontrée pour le caramel à l'ammoniaque a fait supprimer la D J A temporaire de ce dernier.

Un vaste programme d'études à l'aide de caramels bien définis est en cours.

∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿

C H L O R O P H Y L L E

Complexes cuivriques de la chlorophylline et dérivés sodiques ou potassiques

∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿

La Chlorophylle, colorant des feuilles et des parties vertes des plantes est un mélange de 2 composants α et β .

SYNONYMES : Natural Green 3 .

Colour Index, 2e édition (1956) : n° 75 810.

Tables de Schultz : n° 1 403

D F G = 110.

Il s'agit de composés pyrolliques dont le noyau structural se rattache à la porphyrine, comme celui de l'hématine sanguine, mais comportant un atome de magnésium au lieu du fer.

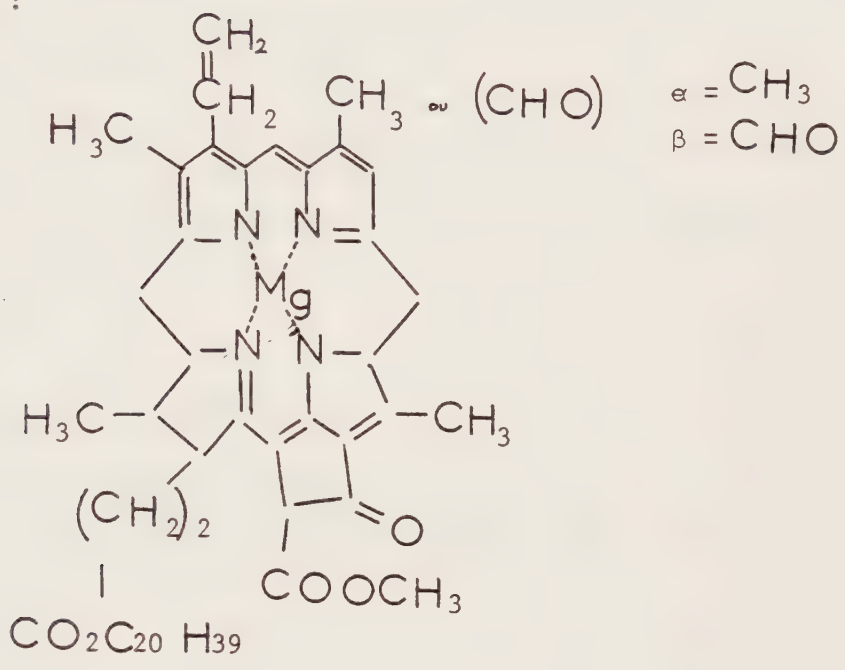
On les obtient à partir des feuilles d'épinard et d'orties.

FORMULES :

$\alpha = C_{55} H_{72} N_4 O_5 Mg$ Poids moléculaire : 893,5

$\beta = C_{55} H_{70} N_4 O_6 Mg$ Poids moléculaire : 907,5

FORMULES DEVELOPPES :



ASPECT : poudre vert foncé

USAGES ALIMENTAIRES :

- bonbons ;
- glaces ;
- fruits et légumes conservés dans un liquide.
- boissons avec et sans alcool .

USAGES PHARMACEUTIQUES. Colorant

L'instabilité de la chlorophylle naturelle a fait remplacer le magnésium par du cuivre et, d'autre part, le complexe cuivre-chlorophylline étant liposoluble, l'hydrosolubilité a été obtenue en remplaçant les groupes ester méthyle et phtylyle par du sodium et du potassium.

Les effets toxiques éventuels sont donc en partie imputables au cuivre libre ionisable présent dans le complexe.

Il est à noter que, du fait de son absence d'utilisation, la chlorophylle naturelle n'a pas été réévaluée et aucune D J A ne lui a été affectée.

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S. [72]

Une D J A définitive a été établie en 1977 : 0 à 15 mg/kg/j.

METABOLISME [6, 64]

A l'état brut, la chlorophylle fait naturellement partie de l'alimentation humaine. Jusqu'à aujourd'hui la pierre d'achoppement du Comité mixte FAO/OMS fut la difficulté d'évaluation du taux de cuivre ionisable des différents échantillons de complexe cuivre-chlorophylle, donnée fondamentale dans l'étude toxicologique.

Après administration orale, l'absorption intestinale est minime et l'excrétion fécale se fait sous forme de complexe calcique.

Dans le plasma, les complexes se retrouvent sous la forme de chlorophylline et d'ions cuivre.

ETUDE TOXICOLOGIQUE [21, 64, 78]

Les substances étudiées sont :

- le complexe cuivre-chlorophylle [1]
- le complexe cuivre-chlorophylline sodique [2]
- le complexe cuivre-chlorophylline potasso-sodique [3]

TOXICITE AIGUE : [64]

COMPOSE	ANIMAL	VOIE	DL 50 mg/kg p.c.
Complexe cuivre-chlorophylline potasso-sodique [3]	SOURIS	p.o.	7 000
Complexe cuivre-chlorophylline [1]	SOURIS	i.p.	190
Complex cuivre-chlorophylline sodique [2]	SOURIS	i.v.	> 400
		i.m.	> 500
		i.p.	> 1 000
	RAT	i.v.	> 250
		i.m.	> 250
		i.p.	> 1 000
	CHIEN	i.v.	> 200
		i.m.	> 50
		i.p.	> 200
	PORC	i.v.	> 10
		i.m.	> 20
		i.p.	> 50

TOXICITE A COURT TERME : [64]

ANIMAL	DOSE	VOIE	EFFETS OBSERVES
SOURIS [2]	0,05 à 5 % solution acqueuse	s.c.	Important accroissement de mortalité (lésions hépatiques et rénales).
RAT [2]	2 000 mg/kg	p.o.	Aucun effet adverse
RATTES [3]	1 %	p.o.	Anomalies au niveau des muscles squelettiques et troubles de la locomotion chez les descendants de 1ère génération.
COBAYE [3]	0,5 %	p.o.	Aucun effet adverse, en particulier pas de scorbut.
POULETS	70 mg/kg et 500 mg/kg	p.o.	Coloration verte du vitellus des oeufs ; aucun autre effet adverse.

Des études de 7 à 10 jours sur les petites séries (inférieures à 10) d'animaux suivants :

- souris [2] = 2,5 g/kg/j ;
- rat [3] = 15 % de la ration ;
- Cobayes, lapins, chats, chiens [2] = 1 g/kg/j.

n'ont montré aucun effet adverse.

TOXICITE A LONG TERME [21, 64, 78]

RAT [3]	0 à 3 %	p.o.	aucun effet adverse (croissance, examens biologiques, sanguins et urinaires, pas de dépôts cuivriques tissulaires). études macroscopiques et histopathologiques des organes normales. la descendance n'a pas montré d'anomalie.

CONCLUSION

Le cuivre des complexes semble relativement bien lié et, bien

qu'on ait signalé une augmentation de la cuprémie en dessus du taux de 0,1 %, aucune accumulation tissulaire notable n'a été observée. La toxicité par voie parentérale est bien plus importante que par voie orale. Des malformations observées chez les descendants de 1ère génération, dans une étude à court terme n'ont pas été confirmées dans une étude à long terme. Des études complémentaires seraient souhaitables.

CHARBON VEGETAL OFFICINAL E 153

Les noirs de carbone (gas black, carbon black) sont des pigments minéraux noirs constitués par du carbone obtenu par chauffage de diverses substances organiques (tourbe, pétrole, bois, os). Ils peuvent renfermer des proportions variables de cendres minérales et d'hydrocarbures aromatiques polycycliques selon la matière première utilisée et les conditions de carbonisation (température et durée).

En France, n'est autorisé pour les usages alimentaires et pharmaceutiques que la qualité correspondant au charbon végétal officinal, c'est à dire, le charbon préparé par calcination, en vases couverts, de bois blancs (saule, bouleau, peuplier, tilleul).

L'usage en est très ancien puisque THEOPHRASTE et PLINE le mentionnent déjà.

UTILISATION ACTUELLE :

- en alimentation : coloration des confiseries ;
- en pharmacie, on l'emploie pour ses propriétés adsorbantes vis à vis des gaz et de certains produits toxiques, et pour la coloration des médicaments.

METABOLISME ET TOXICOLOGIE [6, 78]

C'est sans doute du fait de son usage ancien et de ses propriétés thérapeutiques que les études toxicologiques manquent. On n'a pas noté d'absorption intestinale après administration par voie orale.

Cependant, il a été récemment démontré que certains échantillons du commerce contenaient du benz (alpha) pyrène, carcinogène potentiel.

Plus récemment encore, un hydrocarbure polycyclique inconnu induisant la formation de fibrosarcomes chez la souris, a été mise en évidence.

Les méthodes utilisées jusqu'alors n'ont pas permis de connaître le degré d'absorption des hydrocarbures aromatiques sur les noirs de carbone et ceci, associé au manque de données toxicologiques n'a pas permis

au Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires de faire une évaluation ni de fixer une D J A à ce colorant.

Il est admis dans la C E E sans D J A.

CONCLUSION :

Ce colorant, malgré un manque d'études toxicologiques, ne semble pas présenter d'effet toxique dans la mesure où il ne contient pas de substances étrangères. Un usage ancien n'a pas montré d'effet néfaste.

L E S C O L O R A N T S M I N E R A U X

Ce sont des substances d'usage ancien, traditionnel, probablement peu toxiques et, de ce fait, peu étudiées.

C A R B O N A T E D E C A L C I U M E 1 7 0

(Calcii Carbonas)

Colour Index 2e édition (1956) : n° 77 220 (Pigment White 18)
Tables de Schultz : n° 1 405

$CaCO_3$

Très répandu dans la nature (2 formes : calcite ou spath d'Irlande et Aragonite).

Constituant essentiel des pierres calcaires (marbre, craie, moellons), des coquillages, coquilles d'oeuf, etc. peu soluble dans l'eau.

Il s'agit d'un pigment minéral utilisé comme couvrant blanc (coloration de surface seulement en alimentation). Il doit être conforme aux

prescriptions du Codex, c'est à dire purifié.

Sa toxicité est pratiquement nulle par voie orale. Son usage ancien explique l'absence de données métaboliques et toxicologiques.

O X Y D E S DE F E R

ET LEURS FORMES HYDRATEES E 1 7 2

SYNONYMES :

Tables de Schultz : n° 1 428, 1 429, 1 470.
Colour Index 2e édition (1956) : n° 77 491, 77 492, 77 499.

L'oxyde ferreux ou protoxyde (Fe 0) est une substance noire.

Les oxydes ferriques ($Fe_2 O_3$), rouges ou bruns, sont très répandus. La rouille en est un hydrate.

L'hydroxyde [$Fe (OH)_2$] est un précipité vert résultant de l'action d'un alcali sur un sel ferreux.

USAGES :

- en alimentation comme colorant de surface (peu utilisé) ;
- colorant pharmaceutique.

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S. [73]

Le Comité, considérant les doses utilisées, n'a pas jugé nécessaire d'établir une D J A.

D'autre part, l'admission dans la liste positive des colorants de la C E E ne s'accompagne d'aucune limite supérieure d'utilisation.

TOXICITE AIGUE [64]

ANIMAL	VOIE	DL 50 (oxyde de fer)
RAT	p.o.	> 15 g/kg
SOURIS	p.o.	> 15 g/kg
RAT	i.p.	> 15 g/kg

TOXICITE A COURT TERME [64]

On ne dispose d'aucun résultat d'études sur les oxydes ou hydroxydes de fer.

TOXICITE A LONG TERME [64]

De nombreuses études recherchant un pouvoir carcinogène par voie respiratoire, sous-cutanée et intramusculaire ont été menées ; cependant les résultats obtenus ne permettent pas d'évaluer ces pigments utilisés comme colorants alimentaires.

Aucune étude d'alimentation à long terme portant spécifiquement sur les oxydes et hydroxydes de fer n'a été effectuée.

CONCLUSION

On manque d'études toxicologiques par voie orale. Bien que l'on connaisse bien les effets physiologiques et pharmacologiques des autres dérivés du fer il n'est pas possible d'extrapoler les données à ces composés.

Chacun d'entre eux devrait être évalué dans son propre contexte d'utilisation en considérant le problème de l'hémosidérose.

∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿∿

D I O X Y D E DE T I T A N E

Ti O_2 E 1 7 1

SYNONYMES :

Colour Index 2e édition, (1956) : n° 77 891 (White pigment 6)
Tables de Schultz n° 1 418

Il se présente sous la forme d'une poudre blanche.

Découvert en 1870 par John OVERTON.

USAGES :

- alimentaire (colorant de surface seulement)
- pharmaceutique : médicament utilisé en dermatologie ; colorant.

TRAVAUX DU COMITE MIXTE F. A. O./O. M. S.

Aucune D J A n'a été établie en 1970 par le Comité mixte et la C E E l'admet ainsi. [68]

METABOLISME : [74, 92]

Le corps humain contient environ 9 mg de Ti (dont 49 % dans les

poumons et les ganglions lymphatiques). L'alimentation en est une des sources :

- laitue : 2,5 P P M
- crevettes : 7,38 P P M
- beurre : 2 P P M.

L'ingestion quotidienne est d'environ 0,85 mg pour l'homme.

L'absorption gastro-intestinale du dioxyde de Titane est faible, celui-ci étant très peu soluble : 2 à 5 % chez le rat, 2 % chez le mouton, et 40 % de la dose absorbée chez l'homme est éliminée dans les urines.

TOXICITE AIGUE [74]

ANIMAL	VOIE	DL 50 (mg/kg p. c.)
RAT	p.o.	> 12 000) Titanates de Ba, Bi, Ca ou Pb.
RAT	i.p.	2 000 - 5 300)

TOXICITE A COURT TERME [36, 74, 92]

ANIMAL	DOSE	VOIE	Effets observés
RAT	0 et 10 %	p.o.	Légère augmentation de la teneur musculaire en titane (+ 0,1 PPM) ; aucun effet adverse.
6 CHIENS	0,05 à 1,80 g	p.o.	Aucun effet adverse
3 CHIENS	500 mg à 3 g	s.c. 1/sem.	Aucun effet adverse

TOXICITE A LONG TERME [36, 74]

2 COBAYES	0,6 g/j	p.o.	Aucun effet adverse
2 LAPINS	3 g/j	"	" " "
4 CHATS	3 g/j	"	" " "
1 CHIEN	9 g/j	"	" " "
RAT	5 mg/kg	p.o.	Diminution de la fécondité avec réduction du rapport mâles/femelles. Mortalité accrue chez les animaux de 3e génération.

Des actions inhibitrices de la phosphatase alcaline sérique, de l'amylase et de la tyrosinase ont été observées *in vitro*.

Un rôle de stimulation immunitaire a été observé (stimulation du pouvoir phagocytaire des leucocytes).

CONCLUSION :

Ce colorant, d'usage ancien, n'a fait l'objet que de rares études et son métabolisme est mal connu. La toxicité est faible, mais une étude à long terme a mis en évidence une modification de la fécondité chez le rat.

P I G M E N T S E T L A Q U E S I N S O L U B L E S

(Laques d'Al, de Ca, et de Mg des colorants).

Les divers colorants synthétiques autorisés qui sont toujours hydrosolubles peuvent également être utilisés à l'état de pigments insolubles dénommés "laques".

Ces produits sont formés par l'union de divers colorants avec des métaux, sels métalliques ou du tanin ou par la teinture du colorant sur un support minéral.

Ces pigments sont assez résistants et complètement insolubles dans l'eau.

Leur intérêt est d'éviter de recourir à l'eau pour les dissoudre, et d'éviter l'hydrolyse de certains principes actifs en pharmacie galénique ; leur stabilité étant par ailleurs meilleure.

Ils sont utilisés dans les présentations des médicaments en dragées.

ETUDE DE FREQUENCE DES COLORANTS EMPLOYES DANS LES MEDICAMENTS

Afin de bien situer l'importance de l'emploi des colorants pharmaceutiques, nous les avons comptabilisés au sein des présentations contenues dans le dictionnaire VIDAL qui précise depuis 1978 les excipients de fabrication.

Le tableau 1 concerne la fréquence des colorants autorisés par la pharmacopée, rencontrés dans les différentes présentations parmi lesquelles nous avons distingué :

1 - les comprimés, dragées, gélules, pilules .

2 - les poudres et granulés.

3 - les sirops.

4 - les solutions, ampoules, gouttes (rarement colorées).

5 - les pommades (et dentifrices).

6 - les suppositoires.

7 - les ovules gynécologiques.

8 - les collyres.

Il faut noter que les médicaments injectables ne sont jamais colorés.

Le tableau 2 indique les colorants ne figurant pas dans la liste de la pharmacopée.

Le tableau 3 indique le nombre de présenatations, parmi les catégories citées plus haut, contenant respectivement 1, 2, 3, 4, et 5 colorants associés.

Il faut noter que cette évaluation est probablement inférieure à la réalité car 100 spécialités ne détaillent pas leur excipient.

D'autre part, nous avons rencontré plusieurs médicaments, présentés sous forme de gélules colorées et dont l'excipient ne contenait pas de colorant. Le colorant de la gélule semble donc n'avoir pas toujours été pris en compte.

T A B L E A U I

COLORANTS AUTORISES PAR LA PHARMACOPEE

Présentation	Comprimés Dragées Gelules Pilules	Poudres Granules	Sirops	Gouttes Solutions Ampoules	Pommades Dentifrice	Suppositoires	Ovules gynécologiques	Collyres	TOTAL
CHOCOLAT HT				1					1
F K									0
BRILLANT B N	11	2	3	1				1	18
PAT. V	97		5	3	1	1		1	108
BRILLANT FCF			1						1
GOTINE	81		1	1		1			84
E 2 G	2			1					3
HROSINE	178	3	6	2	2	5			196
INE PONCEAU 4R	128	20	21	22	3	1			195
UBINE	16	1	3	5	1				26
E ORANGE S	145	12	12	12		3			184
RAZINE	317	24	28	23	1	4	1	2	400
E 2 G	1								1
E DE QUILONEINE	10	1	1						12
MEL	4	4	20	31					59
ROPHYLLE	5			1	2	16			24
BON VEGETAL	18	3							21
TENE	1					1			2
U	1			1		1			3
E DE TITANE	359	5		4	2	2	2		374
E DE FER	35	1				1			37
. de CALCIUM	122	8			6	1			137
PRECISE	58	6	7	16	6	6	1		100

TABLEAU II

COLORANTS NON PRECISES DANS LA PHARMACOPEE

Présentation	Comprimés Dragées Gelules Pilules	Poudres Granules	Sirops	Gouttes Solutions Ampoules	Pommades Dentifrice	Suppositoires	Capsules gynécologiques	Collyres	TOTAL
CARBONATE DE FER	17								17
JAUNE SOLIDE	10								10
AMARANTE	6	1	2						9
ECARLATE G N	4								4
RIBOFLAVINE	2					1			3
SAFRAN			1	3					4
ANTHOCYTANE			1						1
REGLISSE	4								4
PAPRIKA						1	1		2
JAUNE BRILLANT	1								1
JAUNE O Z	1								1
BRUN ORGANIQUE	1								1
BLEU DE METHYL	1								1
OCRE JAUNE	1								1
VIOLET DE PARIS	1								1
ROUGE RUBIS	1								1
LYCOPODE	1								1
COCHENILLE	1		2						3
ORSEILLE			1		1				2
ECARLATE ACIDE			1					1	2
BLEU SOLANTHENE						2	1		3
CHARBON ANIMAL	2								2

TABLEAU III

NOMBRE DE COLORANTS PAR MEDICAMENTS
(Colorants autorisés seulement)

Présentation	Comprimés Dragées Gelules	Poudres Granules	Sirops	Gouttes Solutions Ampoules	Pommades Dentifrice	Suppositoires	Capsules gynécologiques	Collyre
1 colorant	421	52	60	88	7	35	2	3
2 colorants	289	17	25	10	6	2		1
3 colorants	147	1	1	0			1	
4 colorants	41					1		
5 colorants	3							
6 colorants								

ENQUETE AUPRES DES LABORATOIRES

Lors de notre étude, nous avons interrogé 66 laboratoires et nous avons reçu 28 réponses.

QUESTIONS

1) LISTE DES COLORANTS EMPLOYES DANS VOS SPECIALITES :

- liste fournie : 24
- liste non fournie : 3
- réponse incomplète : 1

2) DOSES DE COLORANT EMPLOYEES PAR UNITE DE PRISE, OU PAR UNITE DE POIDS DE MEDICAMENT :

- doses précisées : 14
- doses non précisées : 10
- réponses incomplètes : 4

Les réponses incomplètes indiquaient des doses "minimes", "de l'ordre du dixième de microgramme" et "inférieures à 20 microgrammes par unité de prise".

Le tableau de la page 129 récapitule l'ensemble des réponses obtenues. Il met en évidence d'importantes variations des taux de colorant, de l'ordre de 100 (dans un cas de 1 000) et suggère la possibilité d'employer les doses les plus faibles.

3) Y A-T-IL EU RECEMMENT DES RETRAITS OU DES ADDITIONS DE COLORANT DANS VOS SPECIALITES :

Retraits :

- Tartrazine..... 14
- Amarante..... 3
- Brun chocolat S P 2
  (Crocéine, indigotine, jaune orangé S, tartrazine)... 1
- Ecarlate acide..... 1

Additions : 0

Aucune réponse : 12

4) L'ABSENCE DE COLORANT POSERAIT-ELLE DE SERIEUX PROBLEMES DE SECURITE

- Oui : 10
- le colorant est utile : 5
- pas de réponse : 13

5) L'EMPLOI DE COLORANT INFLUENCE-T-IL LE PRIX DES MEDICAMENTS

- Oui : 0
- non ou très peu : 10
- pas de réponse : 18

6) Y A-T-IL EU A VOTRE CONNAISSANCE DES INCIDENTS OU ACCIDENTS RELATIFS A L'EMPLOI DES COLORANTS DANS VOS PRODUITS

- Oui : 0
- non : 12

- pas de réponse : 15

Le pouvoir sensibilisant de la Tartrazine est noté 2 fois, et 3 cas d'allergie probable à la Tartrazine sont mentionnés.

D'autre part un laboratoire mentionne de nombreuses lettres demandant la suppression des colorants et un autre précise que des essais visant à abaisser les doses de colorant au dessous de 20 microgrammes par unité de prise, sont en cours.

DOSES DE COLORANT EMPLOYE PAR UNITE DE PRISE

OU PAR UNITE DE POIDS

Il s'agit essentiellement de comprimés (cp), dragées, gelules, pilules, plus rarement de poudres et sirops et une fois d'un collyre.

Les doses ont été fournies, selon les cas :

- en pourcentage du poids du médicament (comprimé, gelule, dragées, pilule, poudre) ;

- en pourcentage du poids de la tunique d'enrobage (dragée, gelule) ;

- en mg par unité de prise (cp, gelule, dragée, pilule, poudre) ;

- en mg par ml (sirop, solution, ampoule).

Seules les limites inférieures et supérieures sont indiquées, accompagnées du nombre des réponses intermédiaires fournies par les laboratoires, et le nom du colorant est accompagné de la D J A en vigueur au sein de la C E E.

COLORANT	D J A mg/kg/j	DOSE EMPLOYEE
NOIR BRILLANT P N	0,75	0,065 % (cp) ; 1 et 1,5 % de la tunique (dragées)
BLEU PATENTE V	2,5	0,0006 à 0,05 mg/cp (9 réponses) 0,28 % 2,2 mg et 0,56 mg pour 100 ml de sirop 0,0037 % de la tunique (dragées)
INDIGOTINE	5	0,010 à 0,10 mg/cp (5 réponses) 0,0056 % (cp) 0,66 mg pour 100 ml de soluté
ERYTHROSINE	2,5	0,0036 à 0,1 mg/cp (11 réponses) 0,015 % et 0,059 % (cp) 3,23 % de la tunique (dragées) 0,012 % (sirop)
PONCEAU 4 R	0,15	0,01 à 0,14 mg/cp (10 réponses) 3,5 mg/unité de prise (poudre) 0,68 % (cp) 0,05 mg à 5 mg pour 100 g de sirop (5réponses) 5 mg pour 100 ml de collyre
AZORUBINE	2	3 et 4 mg pour 100 ml de suspension
JAUNE ORANGE S	2,5	0,002 à 0,7 mg / cp (13 réponses) 0,0072 à 0,66 % (cp) 6 réponses) 0,023 et 0,26 % de la tunique (dragées) 2,5 et 6 mg pour 100 ml de sirop
TARTRAZINE	7,5	0,0056 à 0,6 mg/cp (13 réponses) 2 et 6,8 mg pour 100 ml de sirop
JAUNE 2 G	0,025	0,002 à 0,15 mg/cp (4 réponses) 0,89 mg pour 100 ml de sirop
JAUNE DE QUINOLEINE	0,75	0,0008 à 0,147 mg/cp (3 réponses)
CHLOROPHYLLE	15	0,0375 % de la tunique (dragées)
OXYDE DE TITANE	(pas de D J A)	0,06 à 7 mg / cp (12 réponses) 0,74 à 2,06 % (cp, 4 réponses)
OXYDE DE FER	(pas de D J A)	0,005 à 1,2 mg/cp (7 réponses) 0,06 à 4,15 % (cp, 4 réponses)
COCHENILLE	(pas de D J A)	34 mg/ml de sirop
		LAQUES D'ALUMINE
JAUNE ORANGE S		0,1 à 5 mg/cp (4 réponses 0,10 %
COCCINE NOUVELLE		1,5 mg/cp
INDIGOTINE		0,062 et 0,3 mg/cp
TARTRAZINE		0,12 à 0,70 mg/cp (4 réponses)

3e PARTIE : DISCUSSION

INTERET DE LA COLORATION DES MEDICAMENTS

Il est bien certain que ce n'est pas par hasard que l'on colore les médicaments. Les arguments en faveur de cet usage sont essentiellement l'intérêt psychologique et la sécurité.

"Les couleurs agissent sur l'âme ; elles peuvent y exciter des sensations, y éveiller des émotions, des idées qui nous reposent ou nous agitent et provoquent la tristesse ou la gaîté". GOETHE.

I - INTERET PSYCHOLOGIQUE DES COULEURS

Les couleurs, comme les sons, résonnent profondément dans notre psychisme et portent un message propre. Le sens des couleurs est déterminé par 2 facteurs :

- la signification fondamentale attribuée à une couleur par le public dans chaque civilisation (et qui peut être identique pour la plupart de celles-ci);par exemple pour le rouge : chaleur, énergie, excitation.

- la signification aux yeux de l'individu isolé, fonction de son vécu propre.

W. EGGERT et M. LUSCHER [53, 54] ont étudié à partir de tests les préférences chromatiques lors de différentes affections et mis en évidence des corrélations statistiquement significatives.

Par exemple, chez les insuffisants cardiaques, une préférence pour le bleu foncé, sédatif, est retrouvée alors que le rouge orange, à tonalité excitante, est ressenti comme antipathique.

Les malades dépressifs et agités choisissent plutôt des médicaments présentés dans des capsules jaunes, teinte lumineuse et gaie, symbole de comportement explorateur et de "tension d'attente".

Chez les malades porteurs de troubles gastro-intestinaux et d'ulcère le choix de couleur se porte préférentiellement sur le vert-bleu qui traduit une tendance aux spasmes de la musculature lisse et le jaune est alors rejeté.

Un autre aspect de la couleur a été développé à travers la chromothérapie. Dès le Moyen-Age les médecins chinois et occidentaux ont employé la lumière rouge dans le traitement de la variole et des affections à exanthème (rougeole, scarlatine, varicelle...).

Au début du siècle, plusieurs thérapeutes Russes et Allemands (KOZLONSKI, MIMIN, CEMAK, DRAPER, SCHELLEN [20]), confirmèrent l'observation de l'action de la lumière bleue sur les névralgies.

Enfin, la lumière verte a été utilisée par M. POTHEAU [20] dans le traitement des maladies nerveuses et des troubles psychopathiques.

Cette teinte, sédative, permettrait au malade de discipliner l'esprit et le corps et de mieux contrôler ses actes. C'est sans doute la raison pour laquelle le vert habille tables de jeux et billards.

Un vaste domaine d'expérimentation s'ouvre à nous avec la chromothérapie.

Il est donc bien certain que, de même que l'enfant (ou l'adulte) peut être attiré par les couleurs évocatrices d'un gâteau sans goût, le patient pourra ressentir sympathie ou répulsion vis à vis de l'aspect du médicament prescrit. Il semble qu'une des conditions du"bénéfice magique" et de la prise régulière du traitement soit la "sympathie" que celui-ci inspire, et cette dernière est, au moins partiellement, liée à sa couleur qui lui apporte une unité et une personnalité originale.

D'autre part, cette sympathie peut, en particulier chez l'enfant et le vieillard anorexique, favoriser l'absorption.

Cependant, il ne faut pas oublier que le nom, la forme, la voie d'administration et surtout la relation médecin-malade relativisent grandement la place de la couleur.

II - LA SECURITE

Il s'agit du principal argument en faveur de la coloration des médicaments. Elle intervient à tous les niveaux :

- dès le stade de la fabrication, bien que non indispensable, la

coloration est un facteur de sécurité lors des nombreuses opérations (mélange, malaxage, séchage, tamisage, etc.) pouvant donner lieu à des erreurs humaines malgré les multiples précautions matérielles de rigueur.

- son rôle de traceur permet de suivre les opérations d'homogénéisation des poudres ou de centrage des comprimés à double noyau (exemple de la coloration des granulés à la digitaline) ;[25]

- lors de la distribution, le déconditionnement hospitalier peut donner lieu à des confusions d'autant plus graves qu'il s'agit souvent de produits toxiques ;

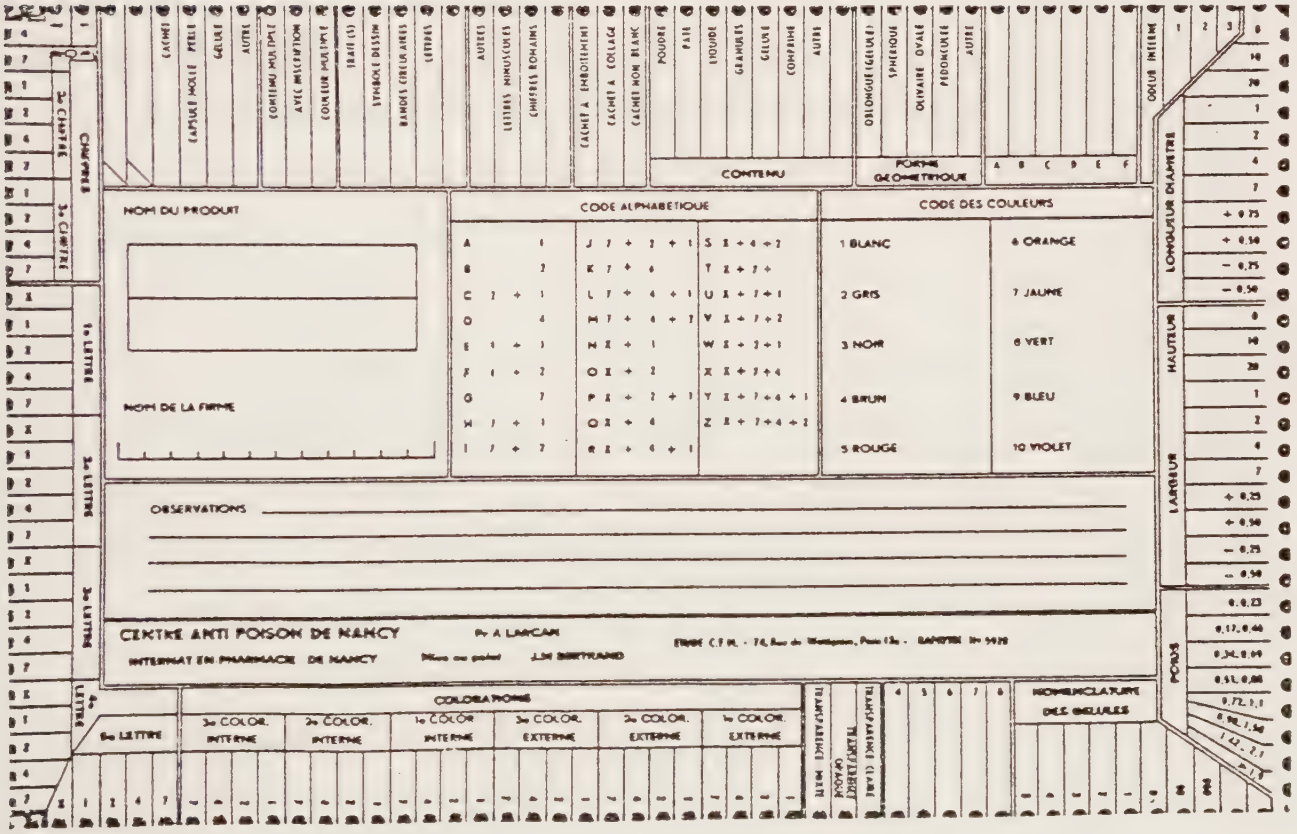
- l'identification visuelle par le patient est très importante ainsi que le montre la pratique quotidienne ou le malade connait souvent mieux la couleur que le nom, en particulier dans le cas des vieillards polymédicamentés.

- enfin, la couleur associée aux autres caractéristiques, joue un rôle important lors de l'identification des médicaments responsables d'intoxications aiguës et elle a été mise à profit lors de l'établissement des fichiers d'identification des Centres anti-poison (en particulier à Nancy, le service du Professeur LARCAN, cf. fiche jointe).[48]

Une conclusion à cet aspect du problème a été donnée par Madame le Ministre de la Santé et de la Famille dans une réponse adressée à Monsieur Claude Martin qui demandait une diminution des colorants dans les médica-

ments. Madame le Ministre souligna "l'incontestable nécessité de l'usage de ces produits pour pallier les risques de confusion, tant au niveau de la fabrication industrielle que de l'utilisation par les praticiens et les malades". [81]

Des études seraient en cours en vue de déterminer les quantités minimales de colorant utiles et le Syndicat national de l'industrie pharmaceutique a invité ses adhérents à faire figurer sur les emballages des médicaments le code CEE des colorants utilisés.



PROBLEMES POSES PAR LA COLORATION DES MEDICAMENTS

Les inconvénients de l'usage des colorants ont été partiellement entrevus tout au long de notre étude et nous les reprendrons un à un.

I - LA SECURITE

Si l'argument de la sécurité est très important pour les industries pharmaceutiques, il peut dans le cas des enfants, prendre un tout autre sens.

Plusieurs auteurs [29, 63, 79] ont montré que lors des intoxications aiguës de l'enfant, les médicaments sont en cause dans plus de 50 % des cas (45,5 %, 54 %, et 56 %). A . OHANA [63] montre, dans son étude,que les conditionnements en vrac sont impliqués dans 70 % des cas et, sur 315 médicaments absorbés, 201 étaient colorés.(Parmi ces derniers, on trouve les psychotropes, oestro-progestratifs et antiseptiques ORL, souvent en cause).

Dans des questionnaires remis aux familles, à côté des rangements défectueux, les gouts agréables et les couleurs vives des médicaments sont

retrouvés comme facteurs favorisant les intoxications (confusion avec certains bonbons du commerce : smarties, cachou...).

C'est pourquoi, en Angleterre, il a été décidé en 1975 que les préparations à base de paracétamol et d'aspirine devaient être présentées dans des emballages opaques à l'épreuve des enfants et que les comprimés ne devaient pas être colorés. L'élargissement de cette réglementation à d'autres substances est prévue.

En Suisse, également, l'accent a été mis sur les conditionnements mono-alvéolaires, en précisant l'importance de l'opacité des matériaux pour diminuer l'attraction des dragées colorées.

Pour conclure, tout en remettant à sa place l'importance de la couleur par rapport à celle du rangement soigneux des médicaments et de leur conditionnement inviolable par les enfants, il faut bien se rendre à l'évidence que l'aspect du produit est souvent le motif premier de l'absorption du médicament.

Ces intoxications médicamenteuses loin d'être négligeables, ont été évaluées à plus de 50 % des 15 976 appels pour intoxication aiguë infantile enregistrés en 6 mois, de janvier à juin 1975.

Certains additifs alimentaires de synthèse (colorants et arômes), ont été mis en cause, aux U. S. A. par le Docteur FEINGOLD [49] dans certaines instabilités caractérielles de l'enfant (hyperkinetic children with learning disabilities : HLD children). Les études en cours ont abouti à des résultats contradictoires [39, 49, 57] et demandent à être complétées.

II - LE POUVOIR SENSIBILISANT DES COLORANTS a déjà fait couler beaucoup d'encre.

Nous avons déjà abordé le sujet au chapitre toxicologique et ceci nous a permis de constater l'extrême difficulté d'affirmer, en pratique courante, la responsabilité d'un colorant lors de phénomènes allergiques. Cependant, l'évolution des procédés d'investigation allergologiques a mis sur la sellette plusieurs colorants dont la Tartrazine, l'Erythrosine, le Ponceau 4 R, le Jaune orangé S.

Il est à noter que le pouvoir sensibilisant testé sur les animaux de laboratoire (cobaye) s'est presque toujours révélé négatif, preuve de l'extrême prudence qui doit accompagner les extrapolations de l'animal à l'homme.

D'autre part, les normes de pureté admettent, en particulier pour les colorants de synthèse, des quantités notables d'impuretés (Ponceau 4 R = 18 % ; Bleu patenté V = 15 % ; Erythrosine = 15 %...)qui peuvent être surtout des produits d'équilibrage (chlorure ou sulfate de sodium) mais aussi, des colorants accessoires, des produits intermédiaires de synthèse, des métaux lourds, etc. [65]

Toutes ces substances souvent mal définie peuvent également être à l'origine de phénomènes de sensibilisation et l'opposition de nombreux allergologues et dermatologues aux colorants alimentaires montre bien l'importance qu'ils attachent à cette catégorie d'additifs

C'est pourquoi le Professeur KIGER [47] a proposé récemment de fixer une posologie maximale de colorant ne dépassant pas 0,1 mg par prise médicamenteuse. En effet, les allergologues considèrent qu'au dessous de

100 microgrammes par prise on ne devrait pas observer les réactions allergiques signalées. Aux doses de 25 et 50 microgrammes de colorant, les comprimés les plus gros présentent encore une teinte bien discernable et ces quantités éviteraient les accumulations de dose entre aliments et médicaments où l'on a constaté des doses de 7 mg par unité de prise.

Il faut noter pour conclure qu'une telle mesure a déjà été prise en Espagne dans le domaine alimentaire où les colorants de synthèse ne doivent pas dépasser 300 PPM dans les aliments solides, 150 PPM pour les boissons alcooliques et 70 PPM pour les boissons sans alcool.

III - CRITIQUE DES ETUDES TOXICOLOGIQUES

Cet aspect est fondamental puisque ce sont elles qui évaluent l'innocuité des colorants et décident de leur emploi.

Bien que d'importants efforts aient été prodigués afin d'augmenter la sécurité des résultats, l'histoire de la toxicologie laisse supposer que l'évolution des méthodes rendra insuffisantes les études actuelles.

En premier lieu, les protocoles, nous l'avons vu tout au long des monographies des colorants, sont souvent incomplets, soit que l'une ou l'autre des études (toxicité aiguë, à court terme et à long terme) manque, soit que le nombre des espèces étudiées soit insuffisant. A ce propos, nous ferons remarquer que l'on admet que 3 espèces, dont une de primates, devraient être étudiées (USA) alors que la législation française n'exige que deux espèces.

Les études sur les gros animaux (chiens, porcs) portent souvent

sur de petites séries inférieures à 10 sujets et enfin, les études de reproduction et les observations de plusieurs générations manquent souvent. (Cf. monographies).

Les données métaboliques, quant à elles, reflètent bien notre ignorance. Elles sont le plus souvent limitées au taux d'absorption intestinale, aux transformations par la flore digestive (colorants azoïques) et les systèmes enzymatiques hépatiques et aux catabolites retrouvés dans les urines (par exemple l'acide sulfanilique). Les catabolites des colorants et de leurs impuretés sont loin d'être tous connus et étudiés. Les conclusions des rapports du Comité mixte F. A. O./O. M. S. d'experts des additifs alimentaires soulignent très souvent cette carence de données (cf. monographies).

Nous arrivons au point le plus important, à savoir le problème de l'extrapolation des résultats de l'animal à l'homme. Il est très délicat pour plusieurs raisons :

- la première tient dans la différence de leur métabolisme respectif, reflet des équipements enzymatiques et des flores digestives spécifiques. Un exemple très évocateur est celui du Brun FK qui nous l'avons vu plus haut, présente des toxicités très différentes selon qu'il est métabolisé par la flore digestive du rat ou de la souris.

- la seconde raison tient dans les différents environnements auxquels sont soumis l'homme du 20e siècle et l'animal d'expérience. Ce dernier pourra présenter une "pathologie de

laboratoire" (ulcère de contrainte) et aura un mode de vie très artificiel (nourriture normalisée, territoire limité à la cage...) alors que l'homme, au contraire, sera soumis à une somme d'autres influences : contact avec de nombreuses substances chimiques, absorption d'autres colorants, de médicaments, maladies modifiant certaines voies métaboliques (perturbation de la flore digestive, ictères, insuffisance rénale, etc...) facteurs d'irritation digestive (alcool, laxatifs).

L'état de santé n'est en effet jamais pris en compte, alors que les sujets absorbant des médicaments sont, par définition, malades. Pas plus, d'ailleurs, ne sont prises en compte les modifications d'absorption intestinale et des moyens de détoxication (foie, rein) liées à la sénescence.

Un autre aspect non pris en compte par l'expérimentation en laboratoire est la sommation des colorants. Celle-ci est fréquente aussi bien dans les aliments que les médicaments où l'on peut retrouver jusqu'à 5 colorants différents. Or, ces associations ont présenté, dans certains cas, un pouvoir carcinogène que ne possédaient pas les colorants isolés, ainsi que l'ont montré PJ PRICE et coll. [77] pour la Tartrazine et le bleu brillant FCF.

Enfin, le problème de la sommation des doses du fait de notre univers "polycoloré" se pose surtout chez les enfants, principaux consommateurs de confiserie. En effet, un enfant de 15 kg, consommant plus de 15 grammes (2 bonbons de dimension courante) de confiserie contenant 100 mg/kg de Rouge 2 G (dose courante) absorbera déjà la D J A. Pour peu que des médicaments contenant le même colorant soient administrés en même

temps, la D J A sera dépassée. Dans le cas du jaune 2 G, 2 bonbons contenant 10 mg/kg de colorant suffisent également à atteindre la D J A. [19]

Ceci montre que le problème des colorants pharmaceutiques ne peut être étudié isolément du contexte, alimentaire en particulier.

EVOLUTION DE LA LEGISLATION

Après ce tour d'horizon toxicologique et la revue des avantages et inconvénients inhérents à l'utilisation des colorants en technologie pharmaceutique, nous aborderons l'actuelle situation internationale et française pour terminer sur les alternatives proposées à l'usage des colorants.

Il est certain que depuis quelques années, l'avènement d'une "conscience écologique" a considérablement remis en question l'usage des additifs alimentaires et ceci, lié à l'accumulation d'observations toxicologiques et à l'évolution des sciences,a abouti, dans beaucoup de pays, à un contrôle plus strict de l'usage des colorants, à leur codification, et dans certains cas, à des suppressions. En particulier, la Tartrazine (France), l'Amarante (France, Belgique, Italie) et le Ponceau 4 R (Belgique) ont vu leur usage restreint. Le rouge de betterave, trop riche en nitrite, et le Rouge Cochenille, contenant des salmonelles sont interdits en Finlande et en Norvège.

Ces exigences de sécurité pourraient devenir les facteurs limitants, même si la toxicité des colorants n'est pas démontrée, du fait des coûts élevés des études toxicologiques. En effet, l'étude complète d'un seul colorant a été évaluée, en Allemagne, à 400 000 DM

L'aboutissement logique de ce mouvement a vu le jour en Norvège et en Suède où les décisions d'interdiction de tous les colorants de synthèse ont été prises à partir des 1er janvier 1978 (Norvège) et 1979 (Suède). [76]

Dans la CEE*, la mesure prise en 1976 de supprimer 9 colorants de synthèse a été accompagnée de la décision de réévaluer les 9 colorants alimentaires suivants dont les D J A avaient été fixées de manière provisoire : [80]

- Jaune de quinoléine (E 104) ;
- Cochenille (E 120) ;
- Amarante (E 123) ;
- Amarante (E 123) ;
- Ponceau 4 R (E 124) ;
- Bleu patenté V (E 131) ;
- Vert acide brillant (E 142) ;
- Caramel (procédé ammoniacal) (E 150) ;
- Noir brillant BN (E 151).

Ceux-ci pourraient être supprimés à partir du 31 décembre 1980 dans la mesure où leur innocuité ne serait pas démontrée.

Il en résulte qu'actuellement, les seuls colorants de synthèse à D J A définitive sont la Tartrazine, le Jaune orangé S, l'Erythrosine et l'Indigotine, qui, nous l'avons vu, ne sont pas sans poser certains problèmes.

D'autre part, la directive 78/25 CEE du 12 décembre 1977 harmonisera, à partir du 12 juin 1979 les 2 listes de colorants alimentaires et pharmaceutiques et aboutira à une liste unique. [17]

(Cependant, les Etats membres pourront encore, pendant 4 ans,

* CEE = Communauté Economique Européenne

utiliser d'autres colorants dans la mesure où ceux-ci auront été autorisés sur leur territoire avant l'adoption de la directive).

Enfin, la directive 78/144 CEE du 30 janvier 1978 a modifié contre la tendance actuelle, pour la 6e fois, la directive du 23 octobre 1962 en lui ajoutant à partir du 1er janvier 1978 les colorants de masse et de surface suivants : [18]

- Bleu brillant F C F ;
- Brun F K ;
- Brun chocolat H T ;
- Rouge 2 G ;
- Jaune 2 G ;
- Riboflavine 5 phosphate ;
- Bioxyde de Titane ;) jusqu'alors colorants de surface
- oxydes et hydroxydes de fer.) uniquement.

Il est à noter que la dérogation autorisant l'emploi de ces colorants sera révisée dans un délai de 3 ans nécessaire aux études toxicologiques complémentaires.

En définitive, dès juin 1979, les colorants alimentaires et pharmaceutiques appartiendront à une liste positive unique, résultat de la sommation des 2 listes actuelles.

PERSPECTIVES D'AVENIR

ALTERNATIVES A L'USAGE DES COLORANTS DANS LES MEDICAMENTS

Nous avons observé, tout au long de notre étude, une évolution dans un sens plutôt restrictif de la législation des colorants pharmaceutiques dans notre pays ainsi qu'au plan international.

Alors que les colorants alimentaires, additifs à but essentiellement économique, pourraient être totalement supprimés, moyennant une éducation du consommateur, les colorants pharmaceutiques justifient leur emploi par des arguments psychologiques et de sécurité.

Seul le dernier argument nous semble devoir être considéré. Non pas que l'intérêt psychologique de la couleur soit négligeable, loin de là, mais, en regard des inconvénients et inconnues toxicologiques et des autres interactions psychologiques médecin-malade-médicament, la couleur parait devoir garder une place accessoire.

Nous nous référerons ici au cas des médicaments homéopathiques,

tous présentés sous forme de solution incolore ou de granules blancs, et dont l'absence de couleur ne semble pas gêner l'emploi.

Cependant, dans ce cas, la toxicité des substances employées est, en principe, nulle, puisque n'agissant pas à dose pondérale, et ceci nous amène à discuter le problème de la sécurité.

Il est bien certain que la couleur est un moyen d'identification rapide à toutes les étapes. Cependant, au stade industriel, le rôle d'indicateur d'homogénéisation n'est pas indispensable puisque les comprimés et poudres incolores s'en passent et, dans les laboratoires, toutes les précautions sont, en principe, prises pour éviter les confusions lors de la fabrication des médicaments incolores.

Notre enquête auprès d'un laboratoire ainsi que les réponses de ceux-ci à notre questionnaire ont permis de constater que la suppression des colorants nécessiterait une réorganisation des systèmes de sécurité lors de la fabrication des médicaments. Ces modifications, bien que peu souhaitées, restent cependant possibles.

En ce qui concerne le consommateur un paramètre important se modifie actuellement : il s'agit de la présentation des comprimés, gélules et dragées. En effet, l'usage de plaquettes de matière synthétique thermoformée et alvéolée("blister" : littéralement ampoule, phlyctène),et de plaquettes souples thermosoudée se généralise. Même dans les services hospitaliers la proportion des médicaments en plaquettes par rapport à ceux en vrac, augmente régulièrement et certaines maisons proposent même aux pharmacies hospitalières le nécessaire de conditionnement en blister.

Ces deux remarques concernant la sécurité nous amènent aux propositions de modification de l'usage actuel des colorants pharmaceutiques.

A côté de la suppression pure et simple de tous les colorants de synthèse, telle qu'elle a été décidée en Suède à partir du 1er janvier 1979 et en Norvège à partir du 1er janvier 1978, et qui est considérée par certains comme une mesure trop radicale, une suppression partielle a été proposée, concernant les contraceptifs oraux, les antihistaminiques et les médicaments utilisés dans le traitement de l'asthme. [59] Les médicaments faisant l'objet de traitements de longue durée (anti-hypertenseurs, diurétiques, antidiabétiques oraux...) ainsi que les médicaments destinés aux nourrissons [19, 37, 59] pourraient en bénéficier également.

D'un autre côté, certains auteurs dont le Professeur JL KIGER, considérant leur utilité ont proposé une réduction de la dose de colorant, souvent excessive, au-dessous de 0,1 mg par prise, permettant d'éviter les réactions allergiques observées.

Enfin, d'autres propositions ont été faites, concernant, d'une part, l'élimination des colorants à D J A particulièrement basse ou à évaluation toxicologique provisoire [19] et, d'autre part, l'indication claire des doses employées, permettant d'évaluer l'absorption quotidienne.

Seuls les colorants toxicologiquement très étudiés et présentant le maximum de garanties de sécurité seraient employés, et seulement en cas d'absolue nécessité. Des colorants tels le caramel et les caroténoïdes sem-

bleraient convenir, d'autant plus qu'il ne semble pas nécessaire d'augmenter le nombre des teintes identiques.

Une tendance actuelle des industries alimentaires consiste à employer des extraits végétaux colorés, considérés comme nutriments, apportant à la fois saveur et couleur (extraits de cassis, d'ortie, de myrtille etc.)., et n'étant pas considérés comme des colorants.

Si de telles modifications survenaient, il est bien entendu que la sécurité devrait être identique et que les autres critères d'identification devraient être révisés.

En particulier les formes, les tailles (paramètre limité), les gravures en creux (pour les comprimés de taille suffisante) devraient être réétudiées dans une optique nouvelle.

Mais de toutes les alternatives proposées, celle qui semble la plus intéressante est la présentation en plaquettes alvéolées ou en pellicules souples thermosoudées.

En effet, ces présentations qui, nous l'avons vu, s'imposent même en milieu hospitalier, présentent le triple avantage :

- d'hygiène (chaque dose de médicament étant protégée) ;
- de sécurité (du fait de la difficulté d'ouverture pour les enfants) ;
- et d'idenfification (grâce à la coloration possible de la plaquette elle-même).

Le problème financier de l'usage des "blister" ne semble pas devoir

être retenu puisque sa généralisation est en cours et, de toute façon, il faudrait alors le comparer au coût actuel des colorants (faible) ajouté à celui des hospitalisations infantiles (plus de 8 000/an) pour intoxication médicamenteuse et à celui des études toxicologiques (cf. chapitre 5, 2e partie).

Un dernier aspect nous parait fondamental : c'est celui de la participation des malades. Il est probable que l'adaptation à des médicaments incolores, vécus comme différents, pourra poser quelques difficultés à certains patients

Cependant, la qualité de la relation médecin-malade nous semble primordiale dans cette évolution et la participation du malade à son traitement y trouverait une occasion de s'améliorer au plus grand profit de chacun.

UNIVERSITE DE DIJON

THESE SOUTENUE PAR M. Jacques R O D

C O N C L U S I O N S

A l'issu de cette étude, fondée sur les connaissances toxicologiques actuelles, les données de technologie pharmaceutique et les tendances de la communauté scientifique nationale et internationale, nous pensons que le problème des colorants pharmaceutiques est mal posé.

Dans ce domaine, il est impossible d'être catégorique, tant sur la toxicité que sur l'innocuité de ces substances. Or, étant donné le doute régnant il parait souhaitable de limiter autant que possible l'usage des colorants, qu'ils soient pharmaceutiques ou, à fortiori, alimentaires.

Des procédés de présentation relativement simples sont déjà utilisés par de nombreux laboratoires et dans différents pays afin de suppléer à la couleur en tant que facteur de sécurité. Cette limitation de l'usage des colorants alliée à une éducation de la population nous parait possible, et nous souhaitons que cette voie soit suivie par notre pays qui a été le premier à réglementer l'emploi des additifs alimentaires pour un mieux-être de tous.

Nous terminerons en soulignant que le problème des colorants pharmaceutiques et alimentaires et leur histoire montrent bien la place de plus en plus importante tenue par le médecin face aux problèmes écologiques de notre civilisation.

Le Président de la Thèse :

VU et permis d'imprimer

Dijon, le 23 avril 1979

Le Doyen,

B I B L I O G R A P H I E

1 - ANONYME
Tartrazine : les industriels ont pris, dès décembre, l'initiative de la supprimer.
Economie et Consommation, 1978, n° 32, 8.

2 - ALBRECHT R., MANCHON Ph.
Métabolisme et toxicité des colorants azoïques
Annales de Nutrition et d'Alimentation, 1973, 27, 1-9.

3 - AMOS H. E., DRAKE J. J-P.
Food additives and hypersensitivity
International flavours and food additives 1977, 8, 19-23.

4 - AUBERT Cl.
Etude critique du risque de sensibilisation aux colorants alimentaires et pharmaceutiques.
Thèse de médecine 1976, Nancy, 247.

5 - BOURGOIN J.J.
La cancérogénèse chimique
Cahiers Médicaux Lyonnais 1973, 49, 265-276.

6 - BRETEAU M., RIDEAU N., BOURIN M.
Les additifs alimentaires, colorants de masse
Revue de Médecine de Tours 1977, 11, 83-95.

7 - BUTTERWORTH K. R., GAUNT I; F., GRASSO P., GANGOLLI S. D.
Acute and short term toxicity studies on Erythrosine BS in rodents.
Food and Cosmetic Toxicology 1976, 14, 525-531.

8 - BUTTERWORTH K. R., GAUNT I. F., GANGOLLI S. D., GRASSO P.
Short term toxicity of Erythrosine BS in pigs
Food and Cosmetic Toxicology 1976, 14, 533-536.

9 - CALAS E., CASTELAIN P. Y.
Intolérance à des colorants pharmaceutiques utilisés pour l'enrobage des comprimés.
Bulletin de la Société Française de Dermatologie et de Syphilligraphie; 1958, 65, 69.

10 - CAPORAL-GAUTIER J., KIGER J.L.
Identification des colorants de synthèse dans les préparations pharmaceutiques.
Revue des Sciences et Techniques Pharmaceutiques, 1976, 5, 97-103.

11 - CASTELAIN P. Y.
L'expression cutanée des allergies alimentaires
Maroc Médical, 1967, 47, 676-683.

12 - CASTELAIN P. Y.
L'allergie aux colorants alimentaires
Médecine et Nutrition (Annales d'Hygiène) 1977, 13, 112-113.

13 - CHAFEE F. H., SETTIPANE G. A.
Asthma caused by F.D. and C. approved dyes.
The Journal of Allergy 1967, 40, 65-72.

14 - CHAUVEAU J., BENOIT A.
Fixation au D N A et aux protéines hépatiques de 2 composés de pouvoir carcinogène différent.
Compte-rendu hebdomadaire des séances de l'Académie des Sciences, série D, 1973, 276, 235-238.

15 - CHUNG K. T., FULK G. E., EGAN M.
Reduction of azo-dyes by intestinal anaerobes
Applied and Environmental Microbiology 1978, 35, 558-562.

16 - CLEMENT R.
Crevettes rouges et bonbons verts
La Presse Médicale 1969, 77, 694.

17 - Communauté Economique Européenne
Directive 78/25/CEE du Conseil des Communautés Européennes du 12.12.77 relative au rapprochement des législations des Etats membres concernant les matières pouvant être ajoutées aux médicaments en vue de leur coloration.
Journal Officiel des Communautés Européennes du 14.1.78

18 - Communauté Economique Européenne
Directive 78/144/CEE du Conseil des Communautés Européennes du 30.1.78 portant 6e modification de la directive deu 23 oct. 62 relative au rapprochement des réglementations des Etats membres concernant les matières colorantes pouvant être employées dans les denrées destinées à l'alimentation humaine.
Journal Officiel des Communautés Européennes du 15.2.78

19 - CUSIOT F.
La coloration des denrées alimentaires et l'information du consommateur
Médecine et Nutrition 1978, 14, 343-346

20 - DERIBERE M.
La couleur dans les activités humaines (3e édition)
Chapitre 8 : Effets psychologiques de la couleur 126-140
Chapitre 9 : Effets physiologiques de la couleur 141-151
Dunod, Paris, 1968, 320 p.

21 - DRAKE J.J.P
Food colour harmless aesthetics or epicurean luxury
Toxicology 1975, 5, 3-42.

22 - DRAKE J.J.P., BUTTERWORTH K. R., GAUNT I.F., GRASSO P.
Long term toxicity study of Black P N in mice.
Food and Cosmetic Toxicology 1977, 15, 503-508

23 - DRAKE J.J.P., BUTTERWORTH K. R., GAUNT I. F., HARDY J.
Long term toxicity studies of Chocolate Brown H T in mice.
Toxicology 1978, 10, 17-27.

24 - DRY J., PRADALIER A.
A propos des additifs alimentaires et de leur rôle allergénique.
Revue Francaise d'Allergologie 1977, 17, 123-125.

25 - ESTIVALS J. P.
Les colorants pour le médicament.
Médecine et Nutrition 1978, 14, 269-272.

26 - EVANS J. G., BUTTERWORTH K. R., GAUNT I. F., GRASSO P.
Long term toxicity study in the rat on a caramel produced by the "half open - half closed pan" ammonia process.
Food and Cosmetic Toxicology, 1977, 15, 523- 531.

27 - FERNANDES B., FIGUEIREDO E., GIRARD J.P.
Etude de quelques additifs alimentaires en tant que facteurs étiologiques de l'urticaire chronique et de l'oedème angioneurotique.
Revue Française d'Allergologie 1977, 17, 127-131.

28 - GANGOLLI S. D., GRASSO P., GOLBERG L., HOOSON J.
Protein binding by Food Colouring in relation to the production of subcutaneous sarcoma
Food and Cometic Toxicology 1972, 10, 449-462.

29 - GAULTIER M.
Prévention des intoxications de l'enfant.
Bulletin de Médecine Légale et de Toxicologie Médicale 1972, 15, 97-100

30 - GAUNT I. F., FARMER M., GRASSO P., GANGOLLI S. D.
Acute (Rat and Mouse) and short term (Rat) toxicity studies on Sunset Yellow F C F
Food and Cosmetic Toxicology 1967, 5, 747-754

31 - GAUNT I. F., KISS I. S., GRASSO P., GANGOLLI S. D.
Short term toxicity study on Indigo Carmine in the pig.
Food and Cosmetic Toxicology 1969, 7, 17-24.

32 - GAUNT I.F., MASON P.L., GRASSO P., KISS I. S.
Long term toxicity of Sunset Yellow F C F in mice.
Food Cosmetic Toxicology 1974, 12, 1-10

33 - GAUNT I. F., BUTTERWPORTH K. R., GRASSO P.,HOOSON J.
Short term toxicity of Yellow 2 G in pigs
Food and Cosmetic Toxicology 1975, 13, 1-5

34 - GAUNT I. F., LLOYD A.G., GRASSO P., GANGOLLI S.D., BUTTERWORTH K. R.
Short term study in the rat on two Caramels produced by variations of the "Ammonia process".
Food and Cosmetic Toxicology 1977, 15, 509-521.

35 - GENIN V.A.
Formation of blastomogenic diphenylamino derivatives as a result of the metabolism of direct azo-dyes.
Voprosy Onkologii 1977, 13, 50-52.

36 - GLEASON , GOSSELIN , HODGE
Clinical toxicology of commercial products
William and Wilkins ed. Baltimore 1957, 1160 p.

37 - GOUNELLE DE PONTANEL H., VIGNE J., MALLE D.
Réticences de l'hygiéniste vis à vis des colorants utilisés en technologie alimentaire
Académie Nationale de Médecine 1975, 159, 318-322.

38 - GOUNELLE DE PONTANEL H., VIGNE J., LETOURMY P.
Une enquête auprès des dermatologues français sur les allergies, notamment par colorants alimentaires.
Médecine et Nutrition 1977, 13, 107-110.

39 - GOYETTE C. H., CONNORS C. K., PETTI T. A., CURTIS L. E.
Effects of artificial colours on hyperkinetic children : A double blind challenge study.
Psychopharmacology Bulletin 1978, 14, 39-40

40 - HANSEN W.H., DAVIS K. J., GRAHAM S. L., PERRY C. H., JACOBSON K. H.
Lont term toxicity studies of Erythrosine : Effects on haematology and thyroxine and P B I in rats
Food and Comsetic Toxicology 1973, 11, 535-545

41 - HESS S.M., FITZHUGH O.G.
Metabolism of coal-tar dyes 1) Triphenylmethane dyes
Federation Proceedings 1953,12, 330

42 - HESS S.M., FITZHUGH O.G.
Metabolism of coal-tar colors : Bile studies
Federation Proceedings 1954, 13, 365.

43 - HESS S.M., FITZHUGH O.G.
Absorption and excretion of certain triphenylmethane colors in rats and dogs
Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 1955, 114, 38-42.

44 - HOLMES P.A., PRITCHARD A.B., KIRSCHMAN J.C.
Multigeneration reproduction studies with Carmoisine in rats.
Toxicology 1978, 10, 169-183.

45 - HOLMES P.A., PRITCHARD A.B., KIRSCHMAN J.C.
A one year feeding study with Carmoisine in rats.
Toxicology 1978, 10, 185-193

46 - HOOSON J., GAUNT I. F., KISS I., GRASSO P., BUTTERWORTH K. R.
Long term toxicity of Indigo Carmine in mice
Food and Cosmetic Toxicology 1974, 13, 167-176

47 - KIGER J.L.
Proposition concernant l'usage pharmaceutique des colorants
Bulletin de l'Ordre des Pharmaciens, 1979, n° 219, 278-288.

48 - LARCAN A., VALANTIN P., BENAMGHAR L., MICHEL G., POSPIECH A.M., MARTIN J.
Le fichier national d'identification des formes médicamenteuses du Centre anti-poison de Nancy
Bulletin de l'Ordre des Pharmaciens 1979, n° 219, 249-277.

49 - LARKIN T.
Food additives and hyperactive children
Cereal Foods World 1977, 22, 582-584.

50 - LEDERER J.
Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire - Tome IV
Maloine 1978, Paris, 214 p.

51 - LIAO L.L., HORWITZ S.B., HUANG M.T., GROLLMAN A.P.
Triphenylmethane dyes as inhibitors of reverse transcriptase, ribonucleic acid polymerase and protein synthesis. Structure activity relationships.
Journal of Medical Chemistry 1975, 18, 117-120

52 - LOCKEY S.D.
Hypersensitivity to Tartrazine and other dyes and additives present in foods and pharmaceutical products
Annals of Allergy 1977, 38, 206-210

53 - LÜSCHER M.
Les patients réagissent aux couleurs
Bulletin d'Informations Capsugel BAS-64 F 1/71
Bâle 1971, 8 p.

54 - LÜSCHER M.
Les préférences chromatiques dans le diagnostic précoce de l'infarctus
Bulletin d'Information Capsugel BAS-83 F 1976/1
Bâle 1976, 8p.

55 - MANNEL W.A., GRICE H.C., ALLMARK M.G.
Chronic toxicity studies on food colours. Observations on the toxicity of Brilliant Blue F C F, Guinea Green B, and Benzyl Violet 4 B in rats.
Journal of Pharmacy and Pharmacology 1962, 14, 378.

56 - MASON P.L., GAUNT I. F., BUTTERWORTH K. R., HARDY J., KISS I., GRASSO P.
Long term toxicity of Carmoisine in mice
Food ans Cosmetic Toxicology 1974, 12, 601-607

57- MATTES J., GITTELMAN-KLEIN R.
A crossover study of artificial food colourings in a hyperkinetic child
American Journal of Psychiatry 1978, 135, 987-988

58 - MEYER O., HANSEN E.V.
A study of the embryotoxicity of the food colour Ponceau 4 R in rats.
Toxicology 1975, 5, 201-207.

59 - MONNERET-VAUTRIN D.A.
Allergie et intolérance aux colorants alimentaires et médicamenteux
Revue Actua, 1978, 10, 35-40

60 - MORTAZAVI S. H., BURROWS B.D.
Allergic reaction to Patent Blue dye in lymphography
Clinical Radiology 1971, 22, 389-390

61 - NELSON A., HAGAN E.C.
Production of fibrosarcomas in rats at the site of subcutaneous injection of various food dyes
Federation Proceedings 1953, 12, 397-398.

62 - NOONAN J.
Color additives in food p. 25-49
Handbook of food additives, T.E. Furia ed. C R C press Cleveland 1970,771 p.

63 - OHANA A.
Les intoxications chez l'enfant par les médicaments
Thèse de Médecine 1976, Paris/La 258

64 - Organisation Mondiale de la Santé
Evolution toxicologique de quelques colorants, enzymes, exalteurs d'arome, épaississants et de certains autres additifs alimentaires.
O M S série Additifs Alimentaires n° 6, Genève, 1976, 215 p.

65 - Organisation Mondiale de la Santé
Normes d'identité et de pureté de divers additifs alimentaires, dont des colorants, exaltateurs d'arome, épaississants et autres substances
Série Additifs Alimentaires n° 7, O M S Genève, 1976, 242 p.

66 - Organisation Mondiale de la Santé
Summary of toxicological data of certain food additives
W H O Food Additives séries n° 12, Geneva 1977, 147 p.

67 - Organisation Mondiale de la Santé
8e rapport du Comité mixte F. A. O./O. M. S. d'Experts des Additifs Alimentaires
Série de rapports techniques n° 309, Genève 1965, 28 p.

68 - Organisation Mondiale de la Santé
13e rapport du Comité mixte F. A. O./O. M. S. d'Experts des Additifs Alimentaires
Série de rapports techniques n° 445, Genève 1970, 40p.

69 - Organisation Mondiale de la Santé
17e rapport du Comité mixte F. A. O./O. M. S. d'Experts des Additifs Alimentaires
Série de rapports techniques n° 539, Genève 1973, 44 p.

70 - Organisation Mondiale de la Santé
18e rapport du Comité mixte F. A. O./O.M.S. d'Experts des Additifs Alimentaires
Série de rapports techniques n° 557, Genève 1974, 40 p.

71 - Organisation Mondiale de la Santé
19e rapport du Comité mixte F. A. O./O. M. S. d'Experts des Additifs Alimentaires
Série de rapports techniques n° 576, Genève 1975, 24 p.

72 - Organisation Mondiale de la Santé
21e rapport du Comité mixte F. A. O./O. M. S. d'Experts des Additifs Alimentaires
Série de rapports techniques n° 617, Genève 1978, 52p.

73 - Organisation Mondiale de la Santé
22e rapport du Comité mixte F. A. O./O. M. S. d'Experts des Additifs Alimentaires
Série de rapports techniques n° 631, Genève 1978, 40 p.

74 - Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
Evaluation toxicologique de divers colorants alimentaires, émulsifiants, stabilisants, agents agglutinants et autres substances.
Réunion de la F. A. O. sur la nutrition, Rapport 46 A.
Food and Agricultural Organisation, Rome 1969, 163 p.

75 - Pharmacopée Française
9e édition 1976
Liste des colorants autorisés pour les médicaments p. 16.11 à 16.13
Ordre National des Pharmaciens Paris 1976

76 - POOK F.
Die heutige Situation der Lebensmittel Farbstoffe
Zucker und Susswaren Wirtschaft 1978, 31, 72-76

77 - PRICE P.J., SUK W.A., FREEMAN A.E., LANE W.T., PETERS R.L., VERNON M.L. HUEBNER R.J.
In vitro and in vivo indications of the carcinogenicity of food dyes
International Journal of Cancer 1978, 21, 361-367

78 - RADOMSKI J.L.
Toxicology of food colours
Annual Review of Pharmacology 1974, 14, 127-137

79 - REBIER-DOSSIER E.
Les intoxications chez l'enfant
Thèse de Médecine 1974, PARIS/CO, 118

80 - République Française
Dispositions relatives à la coloration des denrées alimentaires
Journal Officiel de la République Française, 26 Aout 1976

81 - République Française
Question de M. Claude Martin à propos des colorants pharmaceutiques
(Débats Parlementaires, Assemblée Nationale)
Journal Officiel de la République Française du 24 février 1979

82 - ROCHE (Laboratoire)
Les caroténoïdes
Bulletin technique Roche, 1975, 5, 1-4

83 - SIDIE, AROUETTE J.
Sensibilisation aux colorants azoïques et au groupe de la para.
La Presse Médicale, 1959, 67, 206-208

84 - SYSOEV A.B., ZHURKOV V.S.
A study of the mutagenic activity of synthetic food dyes. Sun Yellow Sunset F C F and its analogous compound . Sun Yellow K.
Gigiena Sanitariia 1974, 0, 26-30

85 - TANAKA K., OKAHARA K.
Influence of food additives on the digestive system
Journal of the Food Hygienic Society of Japan 1973, 14, 234-238.

86 - TARNOW J., PATSCHKE D., WEYMAR A., EBERLEIN H.J.
Kreislaufwirkungen von Indigocarmin beim Menschen
Klinische Wochenschrift 1974, 52, 506-508

87 - THUNE P., GRANHOLT A.
Provocation tests with antiphlogistica and food additives in recurrent urticaria
Dermatologica 1975, 151, 360-367

88 - TRAUTLEIN J.J., MANN W.J.
Anaphylactic shock caused by Yellow dye (F D and C n° 5 and n° 6) in an enema
Annals of Allergy 1978, 41, 28-29

89 - TRUHAUT R.
Additifs aux aliments : les risques de nocivité pouvant résulter de leur emploi inconsidéré. Les méthodes de prévention.
Bulletin de la Société Scientifique d'Hygiène Alimentaire 1962,50,77-185

90 - TRUHAUT R.
Colorants azoïques et réserve hépatique de vitamine A.
Arzneim Forscheinung 1975, 25, 1594-1596.

91 - VENITT S., BUSHELL C.T.
Mutagenicity of the food colour Brown F K and constituents in Salmonella Typhimurium
Mutation Research 1976, 40, 309-316

92 - VENUGOPAL B., LUCKEY T.D.
Metal toxicity in mammals
Tome 2 : Chemical toxicity of metals and metalloïds
Plenum Press, New-York 1978, 409 p.

93 - VOIRY A.M., HOFFMANN M., LAMARCHE M., GUILLEMIN P.
Deux accidents mortels lors d'une injection per-opératoire de Carmin d'Indigo
Annales de Médecine de Nancy 1976, 15, 413-419

94 - VOUCHT R.L., BROWN F.A., WOLFF J.
Erythrosine, an adventitious source of iodine.
Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1977, 34, 747-752

95 - WALKER R.
The metabolism of azo compounds : a review of the litterature
Food and Cosmetic Toxicology 1970, 8, 659-676

96 - WALKER R., GRASSO P?, GAUNT I.
Myotoxicity of amine metabolites from Brown F K
Food and Cosmetic Toxicology 1970, 8, 539-542

97 - WATERMAN N., LIGNAC G.O.E.
The influence of the feeding of a number of food colours on the occurence of tumours in mice
Acta Physiologica et Pharmacologica Neerlandica 1958, 7,35-55

98 - YOSHIMOTO M., OKAMOTO H., HATANO S., WATANABE T.
Effects of coal-tar dyes on the A R N synthesis réaction
Journal of the food hygienic Society of Japan 1977, 18, 154-158